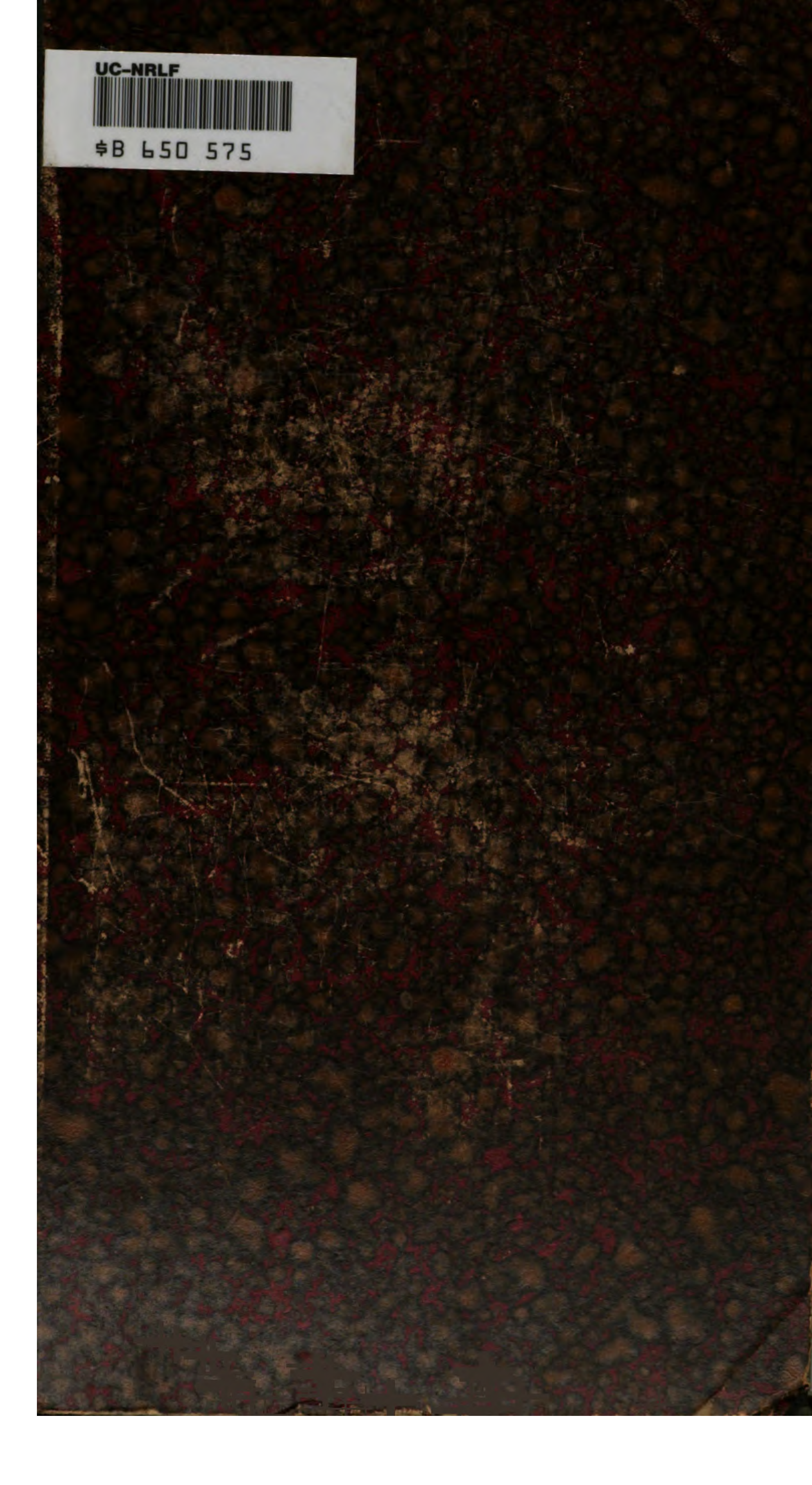

UC-NRLF
$B 650 575


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



PROF. DR. L. MICHAELIS

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin.

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Chr. Bohr-Kopenhagen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Heidelberg, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Berlin, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Zürich, M. Jacoby-Heidelberg, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, D. Kurajeff-Charkow, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New-York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-Berkeley, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New-York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Königsberg, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Prag, Ch. Porcher-Lyon, F. Röhmann-Breslau, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfzehnter Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer
1909.

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Einwirkung von kolloidalem Eisenhydroxyd auf den Hefepreßsaft.

Von

Friedrich Resenscheck.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 6. November 1908.)

In einer früheren Arbeit[1]) wurde nachgewiesen, daß die Gärungsenzyme im Hefepreßsaft durch den elektrischen Strom an der Kathode angereichert werden können, so daß der Kathodenteil des elektrolysierten Preßsaftes eine höhere Gärkraft zeigt als der Anodenteil. Die Wanderung dieser Stoffe bei der Elektrolyse deutet darauf hin, daß sie kolloidale Natur besitzen. Es wurde daher versucht, diese Enzyme mit anderen Kolloiden niederzuschlagen, ähnlich wie L. Michaëlis[2]). L. Michaëlis und M. Ehrenreich[3]) sowie L. Pincussohn[4]) dies für Invertase, Diastase, Tryptase, Peptase usw. durchgeführt haben. Als ein leicht in größerer Menge herstellbares Kolloid verwendete ich zu diesem Zwecke Eisenhydroxyd, das in frisch gefälltem Zustande durch Anätzung mittels Ferrichlorid in Lösung gebracht und durch 14tägige Dialyse von allen Elektrolyten befreit wurde.

Versetzt man Hefepreßsaft mit diesem Eisenhydroxydhydrosol, so entsteht eine rotbraune, dichtflockige Fällung, die sich durch 10 Minuten langes Zentrifugieren vollständig von der Flüssigkeit trennen läßt. Die gesamte zugesetzte Menge Ferrihydroxyd

---

[1]) Diese Zeitschr. 9, 255, 1908.

[2]) Diese Zeitschr. 7, 488, 1908.

[3]) Diese Zeitschr. 10, 283, 1908.

[4]) Diese Zeitschr. 8, 387, 1908.

befindet sich dann im Niederschlag zusammen mit eiweißartigen Stoffen, die im Preßsaft gelöst waren. Vergleicht man die in bestimmten Zeiträumen durch frischen Preßsaft bzw. durch solchen, der mit der Eisenhydroxydlösung behandelt wurde, aus Rohrzucker entwickelten Mengen Kohlendioxyd, so zeigt sich, daß die Behandlung mit der kolloidalen Lösung anfangs eine bedeutende Herabsetzung der Gärkraft zur Folge hat. Nach Verlauf von 3 bis 4 Tagen jedoch, also nach dem Aufhören der Gärung, hat sich die anfänglich bedeutende Differenz zum größten Teile ausgeglichen. Die zahlenmäßigen Versuchsergebnisse sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

Versuch 1.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	72	96
20 ccm	—	8 g	0,2 ccm	1,22 1,20	1,48 1,46	1,49 1,46
10 ccm	10 ccm Wasser	8 g	0,2 ccm	0,50 0,49	0,61 0,61	0,62 0,62
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, die Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2 ccm	0,32 0,31	0,57 0,56	0,61 0,59

Wird statt des mit Eisenhydroxyd behandelten Preßsaftes eine durch Aceton erzeugte Fällung für den Gärversuch verwendet, so zeigt sich bei Beginn der Gärung die gleiche Erscheinung wie bei Versuch 1. Die Acetonfällung aus mit Eisenhydroxyd behandeltem Saft entwickelt aus Rohrzucker bedeutend weniger Kohlendioxyd als die aus unverändertem Saft erzeugte. Jedoch findet in diesem Falle kein Ausgleich der Differenz gegen Ende des Gärungsphänomens statt. Vielmehr ist bei diesen Versuchen der Unterschied in der Gärkraft nach 4 Tagen größer als nach einem Tag.

Die anfangs geringere Differenz bei den Versuchen 2a u. 2b mag mit dem langsamen Einsetzen der Gärung bei derartigen Trockenpräparaten überhaupt zusammenhängen. Über die vermutliche Ursache des verschiedenen Verhaltens von frischem Preßsaft und Acetonfällung nach Beendigung der Gärung soll weiter unten noch die Rede sein.

Versuch 2a.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Acetonfällung	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	96
1,5 g in 20 ccm H_2O	—	8 g	0,2 ccm	0,19 0,18	0,39 0,39	0,64 0,65
1,5 g in 20 ccm H_2O	Der Preßsaft war vorher mit $Fe(OH)_3$-Lösung gefällt. Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2 ccm	0,09 0,09	0,23 0,22	0,49 0,48

Versuch 2b.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Acetonfällung	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72	96
1,5 g in 20 ccm H_2O	—	8 g	0,2 ccm	0,39 0,38	0,62 0,62	0,82 0,82	0,86 0,87
1,5 g in 20 ccm H_2O	Der Preßsaft war vorher mit $Fe(OH)_3$-Lösung gefällt. Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2 ccm	0,29 0,30	0,53 0,54	0,67 0,67	0,68 0,67

Aus den geschilderten Versuchen geht unzweifelhaft hervor, daß durch Zugabe von kolloidalem Eisenhydroxyd die bei der Gärung wirksamen Enzyme des Preßsaftes zum Teil ausgefällt werden, und hierdurch eine Schädigung, zum mindesten eine Verlangsamung der Gärwirkung herbeigeführt wird.

Um aufzuklären, welche Stoffe bei dieser Fällung in Mitleidenschaft gezogen werden, wurde mit den durch Eisenhydroxydlösungen aus Preßsaft erhaltenen Präcipitaten eine Reihe von Versuchen ausgeführt, deren Beschreibung hier folgt. Die Niederschläge für diese Untersuchungen wurden gleichmäßig in der Weise erzeugt, daß 1 Volumen Hefepreßsaft mit 1 Volumen der Eisenlösung, welche 26,04 g $Fe(OH)_3$ im Liter enthielt, versetzt und nach inniger Mischung beider Flüssigkeiten 10 Minuten lang zentrifugiert wurde. Der Niederschlag setzte sich am Boden der Zentrifugiergefäße fest zusammen. Nach

dem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit wurde er zur Entfernung löslicher Bestandteile dreimal mit Wasser, und zur Befreiung von Wasser zweimal mit absolutem Alkohol gründlich verrührt und jedesmal durch Zentrifugieren wieder zum Absitzen gebracht. Schließlich kam die Fällung auf eine Nutsche, wo sie noch einmal mit Alkohol und zur Verdrängung desselben zwei- bis dreimal mit Äther ausgewaschen wurde. Nach 24stündigem Trocknen im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure stellte das Präparat ein rotbraunes, weiches, leicht zerreibliches Pulver dar.

Zunächst war es wichtig, zu prüfen, ob diese Fällung selbst fähig sei, Zucker zu vergären. Ein Versuch ergab, daß dies nicht der Fall war. Die geringe Gewichtsabnahme der Gärkölbchen liegt innerhalb der Fehlergrenze.

Versuch 3.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
$Fe(OH)_3$-Fällung	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	48	72	96	120
0,5 g	20 ccm Wasser	2 g	0,2 ccm	0,03 0,03	0,03 0,03	0,04 0,04	0,04 0,04

Von einer auch nur teilweisen Fällung sämtlicher Gärungsenzyme konnte also nicht die Rede sein. Daß sich jedoch in dem Niederschlag ein Stoff befinden muß, der bei der Gärung eine wesentliche Rolle spielt, zeigten weitere Versuche: Frischer Preßsaft wurde durch Zugabe einer geringen Menge des Präparates aktiviert, d. h. in seiner Gärkraft verbessert, und zwar war die Aktivierung ebenso stark als die mit der gleichen Menge einer Acetonfällung aus Kochsaft[1]) erreichbare.

Auch ist es gelungen, durch Zusatz von Eisenhydroxydfällung aus Preßsaft zu altem, nicht mehr wirksamem Saft, diesen zu regenerieren, d. h. zu neuer Gärkraft anzufachen, wenn auch nicht so intensiv, als dies mit frischbereitetem Kochsaft möglich ist. Hierbei ist zu bemerken, daß die bei diesem Versuch

[1]) Dargestellt durch Erhitzen von Hefe bis zum Flüssigwerden und Abtrennen der festen Bestandteile durch Zentrifugieren. Vgl. auch A. Harden und W. Young, The Journ. of Physiol. 32, Nr. 1, 1904.

Versuch 4a.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72
20 ccm	—	8 g	0,2ccm	0,80 0,80	1,00 1,01	1,05 1,06
20 ccm	0,9 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Preßsaft	8 g	0,2ccm	0,96 0,98	1,23 1,22	1,27 1,26

Versuch 4b.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72
20 ccm	—	8 g	0,2ccm	1,00 1,00	1,63 1,62	1,67 1,66
20 ccm	0,7 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Preßsaft	8 g	0,2ccm	1,16 1,18	1,83 1,84	1,87 1,88

Versuch 4c.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	48	72	96	120
20 ccm	—	8 g	0,2ccm	0,84 0,82	0,85 0,83	0,86 0,84	— —
20 ccm	0,5 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Preßsaft	8 g	0,2ccm	1,14 1,12	1,15 1,14	1,16 1,15	1,16 1,15
20 ccm	0,5 g Acetonfällung aus Kochsaft	8 g	0,2ccm	1,10 1,09	1,12 1,10	1,14 1,11	1,15 1,13

angewandte Menge der Eisenhydroxydfällung aus dem gleichen Quantum Preßsaft gewonnen wurde, als die vergleichshalber verwendete Kochsaftmenge. Die erhaltenen Zahlen sind also direkt vergleichbar. Die Gärkraftsteigerung erreichte, wie aus der Tabelle hervorgeht, durch Zusatz der Eisenhydroxydfällung $^1/_5$, durch Kochsaftzusatz $^1/_3$ der ursprünglich entwickelten Kohlendioxydmenge.

Versuch 5.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72	96
20 ccm	— (Kölbchen 1 und 2)	8 g	0,2 ccm	0,54 0,54	— —	— —	0,88 0,86
20 ccm	— (Kölbchen 3 und 4)	8 g	0,2 ccm	0,55 0,55	— —	— —	0,88 0,88
—	Zu Kölbchen 1 und 2 nach Ablauf der Gärung 1,5 g $Fe(OH)_3$-Fällung	2 g	0,2 ccm	0,12 0,12	0,14 0,14	0,16 0,16	0,17 0,17
—	Zu Kölbchen 3 und 4 nach Ablauf der Gärung 10 ccm Kochsaft	2 g	0,2 ccm	0,23 0,23	0,27 0,27	0,29 0,29	0,29 0,29

Bei einem weiteren Versuche wurde statt frischen Preßsaftes Acetondauerhefe verwendet. Die Gärkraft derselben wurde durch Zugabe der Eisenhydroxydfällung ebenfalls erheblich gesteigert. Die Differenz von 0,1 g am Ende des Versuches überschreitet die Fehlergrenze.

Versuch 6.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden				
Dauerhefe	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	72	96	120	144
2 g in 10 ccm H_2O	—	4 g	0,2 ccm	0,34 0,34	0,74 0,74	0,84 0,84	0,89 0,88	0,92 0,91
2 g in 10 ccm H_2O	0,7 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Preßsaft	4 g	0,2 ccm	0,39 0,39	0,81 0,83	0,91 0,93	0,97 0,99	1,00 1,02

Aus den Versuchstabellen 4 bis 6 geht mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß der durch kolloidal gelöstes Eisenhydroxyd im Preßsaft sich bildende Niederschlag das von A. Harden und W. Young[1]) im Kochsaft entdeckte und jüngst

[1]) Proc. Roy. Soc. 77, 405, 1906.

von E. Buchner und F. Klatte[1]) eingehend untersuchte Ko-Enzym enthält. Diese Vermutung wird noch dadurch bestätigt, daß eine aus Kochsaft mit Eisenhydroxydhydrosol hergestellte Fällung ebenso deutlich aktivierend und regenerierend auf die Gärkraft des Preßsaftes einwirkt als in analoger Weise aus frischem Preßsaft erzeugte.

Versuch 7.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72	120
20 ccm	—	8 g	0,2 ccm	0,88 0,88	1,02 0,99	1,05 1,03	1,07 1,05
20 ccm	1 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Kochsaft	8 g	0,2 ccm	0,94 0,95	1,26 1,25	1,31 1,30	1,34 1,33
20 ccm	1 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Preßsaft	8 g	0,2 ccm	0,94 0,95	1,11 1,13	1,12 1,14	1,14 1,15

Versuch 8.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72	96
20 ccm	—	8 g	0,2 ccm	1,36 1,34	1,61 1,57	1,64 1,60	— —
	Nach Ablauf der Gärung 0,5 g $Fe(OH)_3$-Fällung aus Kochsaft	2 g	0,2 ccm	0,11 0,12	0,14 0,16	0,16 0,18	0,17 0,19

Auch aus dem folgenden Versuch läßt sich mit Sicherheit schließen, daß die Schädigung der Gärkraft durch Behandeln des Preßsaftes mit kolloidal gelöstem Eisenhydroxyd auf der Ausfällung des Ko-Enzyms beruht. Die Zahlen beweisen, daß die Kohlendioxydentwicklung bei mit dem Kolloid behandeltem Saft durch Zugabe einer entsprechenden Menge Kochsaft auf die gleiche Höhe gebracht werden kann, als dies bei normalem Preßsaft möglich ist.

[1]) Diese Zeitschr. 8, 520, 1908.

Versuch 9.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	96
10 ccm	10 ccm Wasser	8 g	0,2ccm	0,19 0,17	0,25 0,23	0,29 0,27
10 ccm	10 ccm Wasser und 10 ccm Kochsaft	8 g	0,2ccm	0,24 0,25	0,34 0,35	0,41 0,42
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, die Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2ccm	0,10 0,10	0,17 0,17	0,25 0,24
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, die Fällung abzentrifugiert, 10 ccm Kochsaft	8 g	0,2ccm	0,13 0,14	0,24 0,25	0,39 0,41

Die erwähnte Vermutung wird weiter noch durch die Tatsache gestützt, daß die braune Fällung einen bedeutenden Gehalt an Phosphorsäure aufweist. Harden und Young[1]) haben ja diese Säure als einen wesentlichen Bestandteil des Ko-Enzyms angesprochen, und Buchner und Klatte[2]) konnten durch eingehende Versuche diese Ansicht bestätigen.

Versuch 10.

Angew. 0,4780 g Fällung mit kolloidalem $Fe(OH)_3$ aus Preßsaft, gef. 0,0397 $Mg_2P_2O_7 = 7{,}09\,\%$ PO_4.

Schwierigkeiten bietet die Entscheidung, ob die Phosphorsäure oder der phosphorsäurehaltige Stoff bei der Bildung des Niederschlages in chemische Bindung mit dem Eisenhydroxyd tritt, oder nur im Sinne der gegenseitigen Ausfällung entgegengesetzt elektrischer Kolloide adsorbiert wird, vor allem deshalb, weil offenbar noch andere eiweißartige Stoffe, die für den Gärungsvorgang ohne Bedeutung sind, mitfallen. Bestimmt konnte aber festgestellt werden, daß von einem nur mechanischen Mitgerissenwerden des Ko-Enzyms nicht die Rede sein kann. Denn, wäre dies der Fall, so müßte die aktivierende und regenerierende Wirkung des Präparates durch das gründliche Auswaschen vor dem Trocknen vernichtet werden.

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

Für eine chemische Bindung zwischen dem Ko-Enzym und dem Eisenhydrat könnte der Umstand sprechen, daß auch durch das Schütteln des Preßsaftes mit festem, pulverförmigem Eisenhydroxyd eine Schädigung der Gärwirkung eintritt. Doch zeigt auch das so erhaltene Trockenpräparat ganz deutlich die Wirkungen des Ko-Enzyms, was wohl nicht der Fall wäre, wenn Ferriphosphat oder eine ähnlich feste chemische Verbindung entstände. Am wahrscheinlichsten ist die Annahme, daß sich eine Adsorptionsverbindung zwischen zwei Kolloiden bildet, die ja hinsichtlich ihrer Beständigkeit zwischen chemischen Verbindungen und rein mechanischen, durch Auswaschen leicht zu trennenden Anlagerungen in der Mitte stehen.

Versuch 11.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	96	120
20 ccm	—	8 g	0,2 ccm	1,45 1,45	1,73 1,73	1,76 1,76	1,77 1,77
20 ccm	Mit 0,8 g festem $Fe(OH)_3$ ausgefällt, Fällung durch Zentrifugieren entfernt	8 g	0,2 ccm	1,33 1,32	1,60 1,59	1,67 1,64	1,68 1,65

Versuch 12.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	96	120
20 ccm	—	8 g	0,2 ccm	1,45 1,45	1,70 1,73	1,76 1,76	1,77 1,77
20 ccm	1 g Fällung, aus Preßsaft mit festem $Fe(OH_3)$ erzeugt	8 g	0,2 ccm	1,61 1,61	1,97 1,97	1,99 1,99	2,00 2,00

Die anfängliche Unklarheit über die Ursache der Schädigung des Preßsaftes durch das Kolloid gab Veranlassung, zu untersuchen, ob vielleicht die Ausfällung der Invertase, eines Enzyms, das tatsächlich durch entsprechend große Mengen der Eisen-

lösung niedergeschlagen werden kann,[1]) die Schuld daran trüge. War dies der Fall, so mußte bei Verwendung von Traubenzucker statt des sonst zur Vergärung angewandten Rohrzuckers die Gärwirkung des Saftes nach Behandlung mit dem Hydrosol unverändert bleiben, doch trat bei dieser Versuchsanordnung eine bedeutende Abminderung der Kohlendioxydentwicklung zutage. Desgleichen blieb ein Versuch, die Beeinträchtigung der Gärwirkung durch nachträglichen Zusatz von Invertaselösung wieder aufsuheben, erfolglos.

Versuch 13.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden			
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	96	120
20 ccm	—	8 g	0,2ccm	1,45 1,45	1,73 1,73	1,76 1,76	1,77 1,77
	Hierzu nach Ablauf der Gärung 1 g Fällung aus Preßsaft mit festem $Fe(OH)_3$	2 g	0,2ccm	0,05 0,05	0,07 0,07	0,08 0,08	— —

Versuch 14.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	48	72
20 ccm	—	8 g	0,2ccm	0,47 0,47	0,78 0,78	0,82 0,80
10 ccm	10 ccm Wasser	8 g	0,2ccm	0,16 0,15	0,31 0,29	0,31 0,30
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2ccm	0,08 0,08	0,19 0,20	0,21 0,22

Nach dem Gesagten besteht kein Zweifel mehr darüber, daß lediglich die teilweise Ausfällung des Ko-Enzyms durch das kolloidale Eisenhydroxyd die Schwächung der Preßsaftwirkung verursacht. Es bleibt jedoch noch die Frage offen, warum die

[1]) L. Michaëlis, diese Zeitschr. 7, 491, 1908.

Versuch 15.

Beschickung der Gärkölbchen				Kohlendioxyd in Gramm nach Stunden		
Preßsaft	Zusätze	Rohrzucker	Toluol	24	72	96
10 ccm	10 ccm Wasser	8 g	0,2ccm	0,28 0,26	0,37 0,35	0,40 0,38
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, Fällung abzentrifugiert	8 g	0,2ccm	0,14 0,13	0,26 0,26	0,30 0,29
10 ccm	10 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung, Fällung abzentrifugiert, dazu 5ccm Invertaselösung	8 g	0,2ccm	0,12 0,12	0,19 0,18	0,19 0,19

anfangs starke Differenz in den Kohlendioxydmengen bei normalem einerseits und durch das Hydrosol beeinflußtem Preßsaft andererseits gegen Ende der Gärung nahezu verschwindet. Merkwürdigerweise zeigt sich diese Erscheinung nur bei direkter Verwendung des Preßsaftes, nicht aber, wenn man die Versuche mit der Acetonfällung aus den zu prüfenden Saftproben ansetzt.

Der Grund für dieses auffallende Verhalten liegt wohl darin, daß im Preßsaft während einiger Tage neues Ko-Enzym in hinreichender Menge gebildet wird. Vielleicht sind enzymartige Stoffe hierbei wirksam. In der Acetonfällung jedoch scheint eine Neubildung von Ko-Enzym nicht mehr stattzufinden.

Über das Verhalten von Preßsaft gegenüber andern Kolloiden und Fällungsmitteln für Kolloide werden noch Untersuchungen angestellt.

Über die sensibilisierende Wirkung pflanzlicher und tierischer Farbstoffe auf Paramaecien.

Von

W. Hausmann und W. Kolmer.

(Aus dem physiologischen Institute der Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 29. Oktober 1908.)

Vor kurzem berichtete der eine von uns[1]) über den Nachweis sensibilisierender Eigenschaften pflanzlicher und tierischer Farbstoffe. Es konnte gezeigt werden, daß methylalkoholische Extrakte grüner Pflanzen intensiv photodynamisch auf rote Blutkörperchen wirken. Weiter konnte nachgewiesen werden, daß diese sensibilisierende Eigenschaft durchaus nicht auf Pflanzenextrakte beschränkt ist, denn es gelang ebenso mit normalen im tierischen Organismus vorkommenden Substanzen, Sensibilisierung roter Blutkörperchen zu erzielen. Es gelang dies durch die tierische Galle, und von den bisher untersuchten Farbstoffen durch das dem Chlorophyll wie dem Bilirubin so nahestehende Hämatoporphyrin.[2])

Die Untersuchungen waren, wie schon erwähnt, mit der Methodik der Hämolyse, die von Sacharow und Hans Sachs[3]) unabhängig und gleichzeitig von H. Pfeiffer[4]) zum Nachweise

---

[1]) W. Hausmann, Über die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenextrakte. Diese Zeitschr. 12, 331, 1908.

[2]) W. Hausmann, Über die sensibilisierende Wirkung tierischer Farbstoffe und ihre physiologische Bedeutung. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 44 und diese Zeitschr. 14, 275, 1908.

[3]) Sacharoff und Hans Sachs, Über die hämolytische Wirkung photodynamischer Stoffe. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 7.

[4]) H. Pfeiffer, Über die Wirkung des Lichtes auf Eosin-Blutgemische. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 9.

photodynamischer Eigenschaften eingeführt worden ist, unternommen worden.

Es schien nun wünschenswert, diese sensibilisierenden Eigenschaften tierischer und pflanzlicher Farbstoffe an dem klassischen Objekte photodynamischer Untersuchung, welches von H. von Tappeiner in das von ihm begründete Forschungsgebiet eingeführt worden ist, an Paramaecien zu studieren, um hierdurch die untersuchten Vorgänge auf möglichst breiter physiologischer Basis zu erweisen.

Die Paramaecien wurden wie üblich in Heuinfusen mit Leitungswasser in hohen Zylindern kultiviert und vor dem Gebrauche durch Aufsteigenlassen in langen Glasröhren nach Verdünnung der Kultur mit Leitungswasser gereinigt. Die so erhaltenen Paramaecien lebten im Leitungswasser, dem Licht ausgesetzt, ohne deutliche Bakterienzooglöabeimengung mehrere Tage.

Die Substanzen, deren sensibilisierende Wirkung wir mit Hilfe der Paramaecien untersuchen wollten, sind zum Teil nur alkohollöslich. Es mußten demnach, wenn wir unsere Versuche an diesem Untersuchungsobjekte durchführen wollten, zwei Bedingungen zutreffen. Fürs erste mußten die Paramaecien eine gewisse Alkoholmenge vertragen, damit ihnen bei Verwendung alkoholischer Lösungen eine genügende Menge des Farbstoffes zugeführt werden konnte. Zweitens durfte durch Wasserzusatz der in Alkohol gelöste Stoff nicht ausgefällt werden. Diese Bedingungen ließen sich, wie aus der nachfolgenden Untersuchung hervorgeht, leicht erfüllen.

Was nun das Verhalten der Parmaecien gegen Alkohol betrifft, so ist es schon seit langer Zeit bekannt, daß Infusorien dagegen relativ sehr unempfindlich sind. O. Loew[1]) gibt an, daß Infusorien 1°/$_0$ige Lösungen von Äthylalkohol vertragen, manche Arten sogar mehrere Tage in dieser leben. Ähnlich verhalten sich nach Bokorny[2]) die Infusorien gegen Methylalkohol.

---

[1]) O. Loew, Natürliches System der Giftwirkungen, 1893, S. 26.

[2]) Th. Bokorny, Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. Pflügers Archiv 64, 262, 1896.

Die von uns verwendete Kultur muß als besonders resistent gegen diese beiden Alkohole bezeichnet werden, da die Tiere in einer Flüssigkeit, die nahezu 6 Volumprozente Äthylalkohol enthielt, erst nach 24 Stunden eingingen, während sie eine 4%ige Lösung mehrere Tage hindurch ohne Schädigung im Lichte sowohl wie im Dunkeln vertrugen. (Vgl. folgende Tabelle.)

Menge der Paramaecienaufschwemmung in ccm	Menge des zugesetzten 96% Äthylalkohols in ccm	Bemerkung
Überall je 5 ccm	0,05	Nach 24 Stund. scheinbar ungeschädigt
	0,10	
	0,15	
	0,20	
	0,25	Nach 24 Stunden noch zahlreich lebend
	0,30	Nach 24 Stunden alles eingegangen
	0,35	
	0,4	

Ein Vergleich mit Methylalkohol ergab im wesentlichen dasselbe Resultat.

Diese Widerstandsfähigkeit der Paramaecien gegen Alhohol ermöglichte also ohne weiteres die Untersuchung vor allem chlorophyllhaltiger Alkoholextrakte, da wir durch die grundlegenden Untersuchungen von Willstätter[1]) über das Chlorophyll wissen, daß aus chlorophyllhaltigen, alkoholischen Lösungen das Chlorophyll durch Wasserzusatz nicht ausgefällt wird, sondern in kolloidaler Lösung gelöst bleibt.

So wenig nun durch den Alkohol die Paramaecien im Lichte wie im Dunkeln geschädigt erschienen, so mußte man sich doch die Frage vorlegen, ob nicht durch den Alkoholzusatz eine uns unmerkliche Schädigung der Paramacien eintrete, und daß das Absterben der so weniger resistent gewordenen Tiere photodynamische Wirkung hätte vortäuschen können, die jedoch eigentlich durch den Alkohol verursacht sein konnte. Es stellte sich aber überraschenderweise heraus, daß wenigstens bei dem stark photodynamisch wirksamen Eosin durch Alkohol die Wirkung sogar verlangsamt wurde.

[1]) R. Willstaetter, Zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. Liebigs Annalen der Chemie 350, 48.

Nachstehende Tabelle zeigt deutlich die verlangsamende Wirkung des Äthylalkohols auf die photodynamische Wirkung des Eosins (Grübler).

Es wurden immer 5 ccm Paramaecienaufschwemmung verwendet, der Versuch in heller Sonne unter starker Kühlung unternommen.

1 %ige Eosinlösung in Alkohol in ccm	Bemerkung	1 %ige Eosinlösung in Wasser in ccm	Bemerkung
0,1	nach 10 Minuten am Leben	0,1	nach 6 Minuten tot
0,2	nach 10 Minuten am Leben	0,2	nach 3 Minuten tot

Dasselbe Resultat wurde erzielt, wenn wässeriger Eosinlösung, mit der die Paramaecien versetzt waren, Alkohol zugesetzt wurde. Natürlich war der Alkoholschutz kein dauernder. Kurze Zeit nach dem Eingehen der wässerigen Proben begannen auch die Paramaecien der Alkoholproben geschädigt zu werden und zu sterben. Es läßt sich vorläufig nicht entscheiden, worauf diese Wirkung des Alkohols beruht. Vielleicht hat es sich um eine durch den Alkoholzusatz verminderte Fluorescenz des von uns benützten Präparates gehandelt.

Es liegt jedoch hier nicht ein allgemeines bei photodynamisch wirkenden Körpern sich einstellendes Phänomen vor. Versuche mit Methylenblau mit und ohne Alkoholzusatz zeigten keinen verzögernden Einfluß des Alkohols.

Hierdurch war festgestellt, daß die Gegenwart nicht zu großer Alkoholmengen im Lichte sowohl, wie im Dunkeln ohne Schädiguug für die Paramaecien bleibt und auch den photodynamischen Versuch gestattet. Es konnte nun daran gegangen werden, die von dem einen von uns festgestellte sensibilisierende Wirkung tierischer und pflanzlicher Farbstoffe auf rote Blutkörperchen nun auch an Paramaecien nachzuweisen.

Es sei zuerst der Versuche gedacht, die wir mit den Extrakten grüner Pflanzen angestellt haben. Da die Paramaecien gegen Äthylalkohol sich im wesentlichen wie gegen Methylalkohol verhielten, so benützten wir zur Extraktion der Pflanzenteile den Äthylalkohol. Die gewaschenen Blätter verschiedener

Pflanzen wurden mit diesem Alkohol extrahiert, dieser Extrakt mit alkoholischer Natronlauge genau neutralisiert. Es ist sehr wichtig, diese Neutralisation genau vorzunehmen, da die Paramaecien sehr empfindlich gegen freie Säuren sind. Nachstehend sei nun einer von den zahlreichen Versuchen mit verschiedenen Pflanzenauszügen mitgeteilt. Die grünen Blätter von Daucus carota wurden mit Alkohol extrahiert, der intensiv grün gefärbte, fluorescierende Auszug filtriert und neutralisiert. Hiervon wurden je 0,2 ccm zu 5 ccm Paramaecienkultur zugesetzt und vier solche Proben angestellt, jede Probe wurde geteilt und die eine Hälfte exponiert, die andere im Dunkeln gehalten. Die der Sonne ausgesetzten Paramaecien wurden stark gekühlt, immer wurden Kontrollversuche mit Alkoholzusatz von 0,2 ccm sowohl im Dunkeln wie im Hellen angesetzt. Es zeigte sich nun ganz übereinstimmend, daß in jenen Proben, die dem Lichte — es genügte auch das diffuse helle Tageslicht — ausgesetzt waren, ausnahmslos die Paramaecien eingingen, während sie im Dunkeln am Leben blieben.

Die sensibilisierende Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenextrakte ist somit auch für Paramaecien erwiesen.[1])

[1]) Ich möchte an dieser Stelle aus einer späteren Mitteilung vorgreifend mitteilen, daß tatsächlich, wie ich annahm, das Chlorophyll der Träger, oder wenigstens einer der Träger der sensibilisierenden Wirkung dieser Pflanzenauszüge ist. Krystallisiertes Chlorophyll, welches ich dem außerordentlichen Entgegenkommen von Herrn Professor Dr. Willstaetter verdanke, wirkte intensiv sensibilisierend auf rote Blutkörperchen und Paramaesien, — Weiter möchte ich darauf hinweisen, durch welche Strahlen diese photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge stattfindet. Nach den vorbildlichen Untersuchungen v. Tappeiners war es wahrscheinlich, daß die roten von Chlorophyll am meisten absorbierten Strahlen auch die Sensibilisation bewirken würden. Es stellte sich in der Tat heraus, daß durch konzentrierte Kupfersulfatlösung, welche die Strahlen bis ungefähr zur Wellenlänge von 550 $\mu\mu$ absorbiert, diese Wirkung der chlorophyllhaltigen Lösung aufgehoben wurde. Durch Eosin und Pikrinsäurelösung, welche die Strahlen von grün bis in das äußerste Ultraviolett absorbieren, jedoch nicht.

In meiner ersten Mitteilung*) wies ich schon darauf hin, daß „wahrscheinlich die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge mit dem photosynthetischen Assimilationsprozesse der grünen Pflanzen in engstem Zusammenhange steht."

*) Diese Zeitschr. 12, 334, 1908.

Wie schon erwähnt, war es dem einen von uns gelungen, auch die sensibilisierende Wirkung tierischer Substanzen auf rote Blutkörperchen nachzuweisen. Es war gezeigt worden, daß Gallenmengen verschiedener Tiere, die an sich nicht hämolytisch für eine gewisse Menge roter Blutkörperchen wirkte, im Licht intensiv photodynamische Eigenschaften zeigten, während die Proben im Dunkeln nicht hämolysiert wurden, kam es bei den belichteten Proben nach kurzer Zeit zu kompletter Hämolyse.

Diese sensibilisierende Wirkung der Galle ließ sich nun fast immer auch unschwer an Paramaecien erweisen.

Galle, die einem Kaninchen unmittelbar nach dem Verbluten entnommen war, wurde mit Brunnenwasser versetzt. Da die Galle in größerer Konzentration hoch toxisch auf Paramaecien wirkt, so wurde 0,1 ccm dieser Galle auf 20 ccm Brunnenwasser verdünnt. 5 ccm unserer Paramaecienkultur wurden mit je 0,1, 0,3, 0,5 der Gallenlösung versetzt. Die Proben wurden geteilt, die eine Hälfte unter starker Kühlung dem Sonnenlichte ausgesetzt, die andere im Dunkeln gelassen. Die exponierten Paramaecien verendeten nach 10 bis 30 Minuten; im Dunkeln lebten die Kontrolltiere nach 24 Stunden völlig unbeschädigt. Doch war in anderen Versuchen nur eine ganz ungleich geringere photodynamische Wirkung der Galle nachzuweisen, da dieselbe bei ihrer sehr wechselnden Tocizität in den einzelnen Fällen ganz verschieden verdünnt werden mußte.

Versuche mit Froschgalle, die in derselben Weise angestellt waren, führten zu denselben Resultaten. Nach der in der ersten Mitteilung des einen von uns über die sensibilisierende Wirkung der Galle angedeuteten Vermutung, ist es naheliegend anzunehmen, daß es sich um Wirkung des Bilirubins oder eines nahestehenden Körpers, vielleicht des Urobilins, handelt.

Was nun die Untersuchung der eigentlichen Blutfarbstoffe betrifft, so lag diese, wie schon erwähnt, sehr nahe im Hinblick

---

Es ist nun bekannt, daß in jenen Strahlen, durch die diese Lösungen sensibilisierend wirkend, auch hauptsächlich die Pflanzen assimilieren. Ich glaube demnach sagen zu dürfen, daß jener Zusammenhang zwischen Photodynamie und Photosynthese dadurch noch wahrscheinlicher gemacht erscheint. W. Hausmann.

auf die nahen Beziehungen zwischen dem Chlorophyll und diesen Farbstoffen. Der eine von uns wies schon in seiner ersten Mitteilung[1]) über diesen Gegenstand auf dem Abschlusse nahe Untersuchungen über die photodynamische Wirkung tierischer Farbstoffe hin. Wir sind mit der systematischen Untersuchung dieser Frage beschäftigt, doch kann schon jetzt mitgeteilt werden, daß Hämatoporphyrin, das, wie gezeigt werden konnte, auf rote Blutkörperchen intensivst photodynamisch wirkt, ebenso auch Paramaecien in sehr hoher Verdünnung stark sensibilisiert.

Durch die Güte von Herrn Professor v. Fürth stand uns salzsaures krystallisiertes Hämatoporphyrin zur Verfügung. Von einer methylalkoholischen 0,2°/₀ Lösung wurde zu den Paramaecien, nach vorhergehender genauer Neutralisation, zugesetzt. Es zeigte sich, daß die Paramaecien im Lichte der Bogenlampe in 1 bis 2 Minuten eingingen, während die Kontrollen im Dunkeln und die im Bogenlichte ohne Zusatz von Hämatoporphyrin ungeschädigt blieben. In einem Versuche gingen die dem diffusen Lichte eines trüben Oktobertages ausgesetzten Paramaecien in 24 Stunden ein, die im Dunkeln befindlichen waren auch nach Zusatz der 20fachen Menge nach 48 Stunden ungeschädigt. Vergleichende Versuche mit der sensibilisierenden Wirkung bekannter Sensibilisatoren (Eosin, Akridin) werden die sensibilisierende Kraft der tierischen und pflanzlichen Farbstoffe als eine sehr hohe erkennen lassen.

Es gelingt demnach, die an roten Blutkörperchen zuerst nachgewiesene sensibilisierende Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge, sowie der tierischen Galle und des Hämatoporphyrins auch an Paramaecien zu erweisen.

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 28. Sitzungsprotokoll der Gesellschaft der Ärzte vom 26. Juni 1908 und diese Zeitschr. 12, 333, 1908.

Das Bindungsvermögen der Stromata.

Von

J. Forssman.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(Eingegangen am 4. November 1908.)

In seiner Übersicht über „Die Hämolyse und die cytotoxischen Sera" in Lubarsch-Ostertags Ergebnissen Jahrg. 11 bespricht Sachs (1) auch ausführlich die von Bang und mir (2) über die Hämolysinbildung publizierte Arbeit. Speziell erwähnt er dabei die von uns aufgefundene Tatsache, daß die Stromata durch selbst nur kurzdauerndes Kochen ihr Vermögen, die entsprechenden, hämolytischen Amboceptoren zu fixieren, einbüßen, ohne daß ihre antigenen Eigenschaften wesentlich dadurch beeinträchtigt werden. Diese unsere Angabe, die mit der Ehrlichschen Seitenkettentheorie nicht im Einklange steht, sieht Sachs ein wenig skeptisch an und stellt uns gegenüber eine Mitteilung von Muir und Fergusson (3), laut welcher diese Forscher im Gegenteil gefunden haben, daß die genannten Receptoren gegen Hitze sehr wiederstandsfähig sind.

Die Erklärung dafür, daß die Versuche von Muir und Fergusson und die unserigen einander so ganz widersprechende Resultate gegeben haben, sucht Sachs darin, daß wir verschiedene Methoden benutzt haben. Betreffend den relativen Wert dieser Verfahren meint Sachs, daß diejenige von Muir und Fergusson schärfer und darum auch besser als die unserige wäre.

Unsere Methode, in einer Lösung oder Aufschwemmung die Existenz von Receptoren für hämolytische Amboceptoren zu beweisen, bestand darin, daß die zu untersuchende Lösung oder Aufschwemmung in angemessener Menge mit entsprechen-

dem amboceptorhaltigem Serum gemischt wurde, und daß, nachdem diese Mischung während $^1/_2$ Stunde bei 37° gestanden hatte, Normalserum und dann eine geeignete Blutkörperchenaufschwemmung zugesetzt wurde. (Vor dem Zufügen des Normalserums wurde in mehreren Versuchen die Mischung zentrifugiert, und nur die helle Flüssigkeit für den weiteren Versuch benutzt.) Das Ganze wurde dann über eine Stunde bei 37° gelassen, nachher 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt, um dann in bezug auf den Hämolysegrad beurteilt zu werden.

Die hierbei auftretende Hämolyse wurde mit der Hämolyse in einem Kontrollröhrchen verglichen, das dieselben Mengen Amboceptor, Normalserum und Blut enthielt und mit 0,85 % Salzlösung zu gleichem Quantum aufgefüllt war. Eine im Vergleich mit dem Kontrollrohr schwächere Hämolyse wurde als Zeichen dafür angesehen, daß Amboceptoren von in der untersuchten Lösung befindlichen Receptoren gebunden worden waren und darum von der Teilnahme bei dem Zustandekommen der Hämolyse ausgeschlossen waren; eine mit dem Kontrollrohre gleichwertige Hämolyse dagegen galt als Zeichen, daß keine Receptoren in der Lösung existierten und Amboceptoren also auch nicht haben fixieren können.

Muir und Fergusson dagegen benutzten die nach Mischen von Receptor, Amboceptor und Komplement eintretende Komplementverluste als Maßstab für das Vorhandensein der Receptoren.[1])

Gleich nachdem diese Sachs'sche Kritik erschienen war, nahm ich die Versuche über das amboceptorfixierende Vermögen der Stromata wieder auf, in der Hoffnung, eine Erklärung der Verschiedenheit der eben besprochenen Resultate von Muir und Fergusson sowie von uns zu finden. Ich habe diese Untersuchung seit dieser Zeit — allerdings mit mehrfachen Unterbrechungen — fortgesetzt und würde auch jetzt die Resultate nicht publiziert haben, da hier viel zu bearbeiten noch übrig ist, wenn nicht von anderer Seite die Frage zur Diskussion herangezogen worden war.

In der Arbeit von Bang und mir gingen wir von der Voraussetzung aus, daß die Stromata die entsprechenden hämo-

---

[1]) Genaueres über unsere Methoden siehe in den Originalabhandlungen.

lytischen Amboceptoren direkt fixieren, daß sie aber das Komplement ohne Mitwirkung des hämolytischen Amboceptors nicht absorbieren können. Hierbei stützten wir uns auf die Angabe Bordets (4), daß „la propiété d'absorber la sensibilatrice appartient aux stromas“ und daß „les stromas absorbent alexine en presence de sensibilatrice tandis qu'ils ne la fixent pas lorsque cette dernière substance est absente“. Soweit ich weiß, ist diese Auffassung Bordets als richtig anerkannt worden und von allen Seiten bis in die letzte Zeit gutgeheißen.

Gleich im Anfang dieser neuen Untersuchung fand ich jedoch, daß die genannte Auffassung in bezug auf die von Bang und mir benutzte Kombination — Stromata aus Ochsenblutkörperchen, für Ochsenblutkörperchen hämolytisches Kaninchenserum, normales Kaninchenserum und Ochsenblutkörperchen — nicht richtig war, sondern daß hierbei das Komplement auch ohne Mitwirkung des Amboceptors absorbiert wurde, und daß dieses auch der Fall war, wenn man anstatt Ochsenstromata, ochsenbluthämolytisches Kaninchenserum und Ochsenblutkörperchen, Schafblutstromata, Schafblut und entsprechendes hämolytisches Kaninchenserum nahm.

Diesen Beobachtungen zufolge berücksichtigte ich auch in meiner Arbeit: „Sind das Antigen und die amboceptorfixierende Substanz identisch oder verschieden“ (5) diese Form der Komplementfixierung durch Stromata (Schema 2 S. 348 dieser Mitteilung). Dann hat v. Liebermann (6), der dieser meiner ebenso wie der obengenannten Arbeit von Bang und mir eine kritische Besprechung gewidmet hat, wo er auch meine Versuche über die Komplementbindung erwähnt, dieselbe Sache bei Ochsenstromata mit Kaninchenserum als Komplement, bei Pferdestromata wahrscheinlich[1]) mit Pferdeserum als Komplement und bei Schweinestromata wahrscheinlich[1]) mit Schweineserum als Komplement gefunden.

Ich kehre jetzt zur Bordet's schon erwähnten Abhandlung zurück, um näher zu untersuchen, inwieweit Bordet's Ver-

---

[1]) Bei den hierher gehörigen Versuchen mit Pferde- und Schweinestromata hat v. Liebermann nicht angegeben, welche Komplemente angewandt worden sind; aber aus einigen anderen Versuchen mit diesen Stromataarten ist man veranlaßt anzunehmen, daß Pferde- resp. Schweineserum benutzt worden sind (S. 412 in v. Liebermanns Arbeit).

suche zu den von ihm gezogenen, oben zitierten Schlußfolgerungen berechtigen. Den Versuch, durch welchen er bewiesen haben will, daß die Mitwirkung des hämolytischen Amboceptors (von anderen Amboceptoren ist hier keine Rede) notwendig ist, um die Fixierung des Komplementes durch Stromata zu bewirken, beschreibt Bordet selbst mit folgenden Worten [(4) S. 266]: „Pour faire cette experience on se procure une emulsion épaisse de stromas, à laquelle on ajoute une grande volume d'eau physiologique. On centrifuge, on decante le liquide surnageant qui est limpide et légèrement rose. On répète ce lavage par l'eau physiologique jusqu'à ce que l'emulsion de stromas soit tout à fait blanche, débarrassée d'hémoglobine. On divise cette emulsion en deux parts égales, on ajoute à chacune la même dose alexine (serum de cobaye neuf). Dans le premier mélange on introduit ensuite un peu de sensibilatrice (serum hémolytique chauffé à 55^0); dans le second, même dose de serum de cobaye neuf qu'à été également chauffé à 55^0. On constate ultérieurement, par les procédés habituels, que dans le premier mélange l'alexine a disparu du liquide pour se fixer sur les stromas; ce phénomène d'absorption d'alexine ne s'est pas produit dans le second mélange, qui ne contenait pas de sensibilatrice."

Wie ersichtlich, kann man aus diesem Versuche nur die Schlußfolgerung ziehen, daß Immunserum für die Komplementfixierung notwendig ist, aber ob die Wirkung des Immunserums hier von Sensibilatrice oder von anderen Immunsubstanzen abhänge, darüber erhält man aus diesem Versuche keine Auskunft.

Es war mir allerdings wahrscheinlich, daß auch in den Bordet'schen Versuchen die Stromata ohne Mitwirkung des Amboceptors Komplement fixierten; da aber Bordet seine Versuche unter Verwendung von Meerschweinchenserum als Normalserum gemacht hat, habe ich es angezeigt gefunden, die Bordetschen Versuche unter Einhaltung von Bordets eigener Versuchsanordnung auszuführen.

Die Stromata wurden hier und in allen folgenden Versuchen folgendermaßen hergestellt. Wasserhämolyse von 15 ccm zweimal mit 0,85 % NaCl-Lösung gewaschenen Blutkörperchen in 150 ccm destilliertem Wasser; nach 30 Minuten Zufügung von konz. NaCl-Lösung bis einem Totalgehalt von 0,85 NaCl; Zentrifugieren. Entweder wurde dann mit dem

so erhaltenen Bodensatz dieselbe Prozedur noch zweimal wiederholt oder der Bodensatz zwei- oder mehrmals mit 0,85 %iger NaCl-Lösung gewaschen. In diesem Falle bekommt man einen leicht rötlichen, in jenem einen weißen Bodensatz, welcher für die Versuche in 5 ccm 0,85 NaCl-Lösung aufgeschwemmt wurde. Die Aufschwemmung der leicht rötlichen Stromata wird im folgenden mit Str. 2, die der anderen als Str. 1 bezeichnet. — Die Zentrifugierungen waren überall mit gleicher Geschwindigkeit und während gleicher Zeit ausgeführt und es war darum auch die Stromataausbeute bei gleicher Herstellungsmethode ungefähr quantitativ gleich groß, dagegen immer viel kleiner bei Str. 1 als bei Str. 2.

Gegen Anwendung verdünnter (0,80 %iger) Kochsalzlösungen bei der Stromaherstellung opponiert v. Liebermann, weil so bereitete Stromata nicht so dargestellt sind, „wie sie mit Berücksichtigung der sog. Stromata dargestellt werden sollten", „da das Globin in verdünnten Salzlösungen löslich ist" [(6) S. 417]. Es ist jedoch unverständlich, wie man eine Stromamethode nur aus der Ursache abfertigen will, daß das Globin in verdünnten Salzlösungen löslich ist, denn diese Substanz, wie bekannt ein Eiweißspaltungsprodukt des Hämoglobins, wird mit dem Hämoglobin bei der Wasserhämolyse von den Stromata ausgeschieden und hat weiter gar nichts mit den Stromata zu tun. Daß große Verluste an Stroma bei dieser Darstellung, wie v. Liebermann sagt, vorkommen, ist richtig, aber doch nicht größer, als wenn man versucht, ohne NaCl-Zusatz die Stroma abzuzentrifugieren.

Ich kann also die Berechtigung der Bemerkung v. Liebermanns nicht anerkennen und habe darum auch nach wie vor dem Erscheinen der v. Liebermann'schen Arbeit die oben genannten Herstellungsmethoden benutzt, wie übrigens auch schon Bordet und Muir und Fergusson ihre Stromata so wie Str. 2 bereitet haben.

Ich teile jetzt das Protokoll über einen Versuch mit, der genau in Übereinstimmung mit dem schon zitierten Bordet'schen Versuch ausgeführt ist.

Tabelle I. Folgende Verkürzungen werden hier und in den übrigen Versuchsprotokollen angewandt. Ser = ochsenblut-hämolytisches Kaninchenserum; MS = normales Meerschweinchenserum; NaCl = 0,85 NaCl-Lösung; Bl = 1 ccm 10 %ige Aufschwemmung von Ochsenblutkörperchen in NaCl;

0 = keine	Hämolyse
× = schwache	"
×× = kräftige	"
××× = fast totale	"
×××× = totale	"

1. 0,5 NaCl + 0,05 Ser + 0,07 MS $^1/_2$ Std. 37°
2. 1 Str. 2 + 0,1 " + 0,14 " $^1/_2$ " 37°
3. 0,5 NaCl + 0,05 " + " $^1/_2$ " 37°
4. 1 Str 2 + 0,1 " + " $^1/_2$ " 37°

2. oder 4. wurden zentrifugiert, bis eine ganz helle Flüssigkeit erhalten wurde, wonach vom Rohre 2 0,62 ccm, vom Rohre 4 0,55 ccm abpipettiert wurden, also genau dieselben Quantitäten wie im Rohre 1 resp. 3; nur diese hellen Flüssigkeiten wurden weiter benutzt und bezeichnet als 2 resp. 4.

An die Röhre 1 und 2 wurden jetzt Bl, an 3 und 4 0,07 MS + Bl zugefügt, die Röhre wurden 2 Stunden bei 37° gelassen, 24 Stunden im Eisschranke, dann zeigten

1. ×××
2. 0
3. ××××
4. 0

2 und 4 wurden dann zentrifugiert, jeder der Bodensätze viermal mit 4 ccm NaCl gewaschen, nachher mit 1 ccm NaCl + 0,07 MS versetzt, wobei beide Rohre nach 2 Stunden bei 37° totale Hämolyse aufwiesen. Das hämolytische Vermögen von Ser und MS geht aus folgenden, gleichzeitig ausgeführten Proben vor:

0,05 Ser +	0,07 MS +	Bl nach	2 Stunden	bei 37°	××××
0,05 " +	0,05 " +	" "	2 "	" 37°	×××
0,05 " +	0,01 " +	" "	2 "	" 37°	×
	0,1 " +	" "	2 "	" 37°	0
0,05 " +	+	" "	2 "	" 37°	0

Kontrollproben wurden auch ausgeführt, welche zeigten, daß die Hämolyse von Meerschweinchenblut durch meerschweinchenbluthämolytische Kaninchenserum und MS keine Beeinträchtigung durch dieselben Stromata fand.

Aus diesem Versuch ist klar, daß auch in dieser ursprünglichen Bordetschen Kombination von Stromata, Blut und Sera das Komplement von den Stromata ohne Mitwirkung des hämolytischen Amboceptors gebunden wird; es ist also die entgegengesetzte Meinung nicht richtig.

Wie schon gesagt worden ist, haben Muir und Fergusson bei ihren Untersuchungen über das Fixationsvermögen der

Stromata eine Komplementfixierungsmethode benutzt, um die in einer gewissen Stromaufschwemmung befindlichen Amboceptormenge zu messen. Dabei haben die genannten Autoren ebenfalls die obengenannte Kombination von Blut, Sera und Stromata wie Bordet angewandt, und ihre Stromata sind genau wie Str. 2 hergestellt. Die Forscher gehen von der oben erwähnten Bordetschen Voraussetzung aus, daß das Komplement, welches in dieser Kombination gebunden worden ist, nur durch Vermittelung des hämolytischen Amboceptors gebunden worden sein kann; darauf ist ihre Methode begründet, und da diese Grundlage irrig ist, können auch die mit dieser Methode gewonnenen Resultate und die daraus gezogenen Schlußfolgerungen hinsichtlich der hier diskutierten Frage keinen Wert beigelegt werden.

Ich möchte jetzt über die von mir angestellten Experimente Bericht erstatten, welche ausgeführt wurden, um die Beziehung zwischen das Fixationsvermögen der Stromata einerseits von hämolytischen Amboceptoren andererseits von Komplement ohne Mitwirkung der genannten Amboceptoren zu untersuchen.

Die meisten hierhergehörigen Versuche sind mit Ochsenblut, nur einige wenige mit Schafblut gemacht. Betreffs der Resultate will ich gleich hier vorausschicken, daß sie bei den verschiedenen Stromataaufschwemmungen sehr wechselnd gewesen sind, auch wenn die Stromata in ganz genau derselben Weise bereitet und die Versuchsanordnungen auch in jeder Hinsicht so weit wie möglich gleich waren, Umstände, welche mich lange Zeit von einer Veröffentlichung der Versuche zurückgehalten haben.

Mehr als 50 verschiedene Stromataproben habe ich untersucht; ich werde mich jedoch darauf beschränken, die verschiedenen Typen von Versuchsprotokollen wiederzugeben, da ein Publizieren der ganzen Protokollserie keinen Zweck hätte. In allen Versuchen habe ich dasselbe hämolytische, inaktivierte Kaninchenserum, vom mit Ochsenblutkörperchen behandelten Kaninchen angewandt; dieses wird mit Ser bezeichnet; alexinhaltiges Kaninchenserum = NS. Betreffs der übrigen Bezeichnungen weise ich auf die vorige Tabelle hin.

Ich habe gleichzeitig immer auch dieselben Versuche so gemacht, daß das NS erst nach dem ersten Aufenthalt der Röhre bei 37°, also unmittelbar vor dem Blutzusatze zugefügt wurde; doch hat dies keine andere Veränderung der Ergebnisse bewirkt, als daß dann die erste

Tabelle II.

Typ	Röhre		Behandlung		Behandlung	
Typ. I.	1. 0,5 NaCl . . .	+ 0,05 Ser + 0,3 NS	¹/₂ St. 37⁰; 2. und 3. dann zentrifugiert, bis eine ganz helle Flüssigkeit erhalten wurde, diese Flüssigkeit abpippettiert und nur sie verwendet	×××		
	2. 0,5 Str. 2 . . .	+ „ + „		Bl; 2 St. bei 37⁰. ○	Die Röhre wurden zentrifugiert, die Bodensätze je viermal mit 4 ccm NaCl gewaschen, dann wurde zu jedem Bodensatz 1 ccm NaCl + 0,4 NS zugefügt und 2 St. bei 37⁰ gelassen	○
	3. 0,5 Str. 2, 3 Min. gekocht . . .	+ „ + „		○		×××
Typ. II.	1. 0,5 NaCl . . .	+ „ + „	„	×××		
	2. 0,5 Str. 1 . .	+ „ + „		„ ○	„	○
	3. 0.5 Str. 1, 2 Min. gekocht . . .	+ „ + „		○		×××
Typ. III.	1, 0,5 NaCl . . .	+ „ + „	„	×××		
	2. 0,5 Str. 1 . . .	+ „ + „		„ ○	„	×××
	3. 0,5 Str. 1, 2 Min. gekocht . . .	+ „ + „		○		×××
Typ. IV.	1. 0,5 NaCl . . .	+ „ + „	„	×××		
	2. 0,5 Str. 1 . . .	+ „ + „		„ ××	„	××××
	3. 0,5 Str. 1, 2 Min. gekocht . . .	+ „ + „		××		××××

Hämolyse ein wenig stärker ausfiel; und liegt die Ursache hierzu sicher darin, daß hier NS ohne eine vorherige Abschwächung durch halbstündiges Erwärmen wie bei der anderen Versuchsanordnung Hämolyse hervorrufen konnte.

Wie schon gesagt, sind die eben mitgeteilten Protokolle nur Typen, welche ich aus der großen Reihe herausgenommen habe. Als Versuchsresultat habe ich jedoch jeden von diesen Typen mehrmals bekommen, so daß jeder Typus nicht nur vereinzelte, sondern mehrere Versuche repräsentiert. Versuche, welche übereinstimmend mit Typ. III und IV ausfielen, habe ich relativ öfter bekommen als solche, welche zu Typ. I und II gehörten. Die übrigen Versuche, welche hier nicht wiedergegeben werden, bilden nur Übergänge zwischen den verschiedenen Typen.

Bei Durchmusterung der obenstehenden Protokolle sieht man gleich, daß in allen Versuchen eine deutliche Komplementfixierung ohne Mitwirkung von hämolytischem Amboceptor vorkommt, welche Fixierung beim Kochen nicht verschwindet. Die Stärke dieser Komplementfixierung kann, wie aus den Typen hervorgeht (vgl. Typ. IV mit den übrigen) in erheblichem Grade wechseln. Dieser Wechsel erklärt, wieso Bang und ich die von uns publizierten Resultate unserer Stromataversuche [(2) S. 272, Versuchsreihe 6] erhalten haben können. Bei diesen haben wir nämlich eine Mischung von *gekochten* Stromata und Ser. $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen, nachher mit NS und Bl versetzt, noch 1 Stunde bei 37° aufbewahrt, und dann ganz dieselbe Hämolyse bekommen wie im Kontrollrohre ohne Stromatazusatz, während das andere Parallelrohr mit *ungekochten* Stromata keine Hämolyse aufwies.

Die von uns in diesen Versuchen verwandten Stromata haben augenscheinlich ein sehr schwaches komplementfixierendes Vermögen (ohne die Mitwirkung des Amboceptors) gehabt, weshalb das zugesetzte NS genügte, nicht nur dieses zu überwinden, sondern auch eine starke Hämolyse zu bewirken, in den Versuchen nämlich, wo der Amboceptor durch das Kochen der Stromata noch frei und nicht gebunden war.

Auch in bezug auf das Fixierungsvermögen der Stromata von Amboceptor kommen Variationen vor. Typ. I und II zeigen uns so Versuche, wo die ganze verwandte Amboceptor-

menge durch die Stromata fixiert worden ist; in Typ. III und IV sieht es dagegen so aus, als ob keine Ampoceptorfixation vorkomme. Und wie gesagt, zwischen diesen Extremen zahlreiche Übergänge. Solche Versuchsergebnisse wie Typ. III habe ich mehrmals gesehen unter Anwendung von Str. 2, aber noch häufiger von Str. 1.

Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß Versuche, welche mit so großen Quantitäten Amboceptor wie hier vorgenommen sind, nicht geeignet sind, sehr kleine Mengen amboceptorfixierende Substanz zu enthüllen. Um dies zu erreichen, habe ich solche Stromaaufschwemmungen, welche, nach der obengenannten Versuchsanordnung zu beurteilen, keinen Amboceptor zu fixieren schienen, unter Anwendung sehr kleiner Amboceptorquantitäten geprüft. Bei den schwachen Hämolysegraden ist es nämlich leicht, sehr unbedeutende Differenzen in der Hämolyse zu bemerken, und also die Gegenwart von kleinen Quantitäten amboceptorfixierender Substanz nachzuweisen.

Bei dieser genaueren Prüfung habe ich jedoch keine Stromataproben angetroffen, die gar nicht fixierten, sondern bei denselben immer eine, wenn auch oft außerordentlich schwache Amboceptorfixierung erhalten. Hierdurch wird es natürlich nicht ausgeschlossen, daß solche Stromata vielleicht gefunden werden können, welche nicht den Amboceptor fixieren und deren antigenen Eigenschaften so von größtem theoretischen Interesse sind.

Die Ursachen der oben angeführten Unregelmäßigkeiten habe ich nicht finden können. Mehrere oder wenigere Waschungen scheinen keinen Einfluß zu haben; wahrscheinlich liegen die Verschiedenheiten bei den Blutkörperchen der Versuchstiere, obwohl sie doch artgleich waren. Das Alter ist jedenfalls nicht das bestimmende, wie ich mich bei vergleichenden Versuchen von Stromata aus Kalb und Ochsen überzeugt habe.

Hier möchte ich endlich auf die schon erwähnte Arbeit von v. Liebermann: „Können Antigene Amboceptoren fixieren?“ noch ein wenig eingehen. Diese Publikation ist hauptsächlich eine Kritik teils meines Aufsatzes: „Sind das Antigen und die amboceptorfixierende Substanz der Blutkörperchen identisch oder verschieden?“, teils derjenigen von Bang und mir: „Über die Hämolysinbildung“. Die, wir mir scheint, wichtigsten

Bemerkungen v. Liebermanns sind gegen die von uns angewandte Versuchstechnik gerichtet und berühren eben die Frage, mit der ich mich oben beschäftigt habe. v. Liebermann versucht auf diesem Wege, den von Bang und mir gezogenen Schlußfolgerungen den Boden zu rauben. Daß Bang und ich in unserer gemeinsamen Arbeit diejenige Komplementfixierung, die ohne Mitwirkung des hämolytischen Amboceptors bei den Stromata vorkommt, bei unseren Stromaversuchen nicht berücksichtigt haben, ist ein Fehler, der schon oben seine Erklärung erhalten hat. Dieser Umstand verhindert jedoch nicht, daß die Versuchsreihe 6 unserer Stromaversuche 2 (S. 272) betreffend den Einfluß des Kochens auf das amboceptorfixierende Vermögen der Stromata beweisend ist. Da in diesen Versuchen das Rohr mit dem gekochten Stromata + dem hämolytischen System gleich starke Hämolyse wie das Rohr mit dem einfach hämolytischen Systeme aufwies, muß durch den Zusatz von Komplement die eben besprochene Komplementfixierung, welche durch ein kurzdauerndes Kochen, wie schon gesagt, nicht beeinflußt wird, nicht nur neutralisiert worden sein, sondern Komplement hat sich auch im Überschuß befunden, um zusammen mit den durch die gekochten Stromata unbeeinflußten Amboceptoren die Hämolyse bewirken zu können. Und da das Parallelrohr mit den ungekochten Stromata + dem hämolytischen System trotz derselben Menge von Komplement keine Hämolyse aufwies, muß also hier die Neutralisation der Hämolyse von Amboceptorfixierung durch die Stromata abhängen.

Daß unter solchen Verhältnissen Injektionen von denselben gekochten Stromata bei Kaninchen Hämolysinbildung hervorriefen, läßt sich nicht mit der Ehrlichschen Seitenkettentheorie in Einklang bringen.

Jeder, der die Arbeit von Bang und mir durchliest, sieht, daß es sich darum handelt, hier überall bei den verschiedenen von uns untersuchten Lösungen oder Aufschwemmungen das Vorkommen oder das Nichtvorkommen von Receptoren nachzuweisen. Gegen die hierfür von uns benutzte Methode, welche also von allergrößter Bedeutung für unsere Schlußfolgerungen ist, formuliert v. Liebermann seine Bemerkungen folgendermaßen: „Die genannten Forscher (Bang und ich) setzen voraus, daß eine durch Amboceptor mit Komplement bewirkte Hämolyse durch Zusatz

des betreffenden Antigens, also desjenigen Körpers, unter deren Einwirkung der Amboceptor entstanden war, aufgehoben werden müßte, wenn dieses Antigen wirklich einen Receptor für den Amboceptor besäße, und gründen ihre Methode auf diese Voraussetzung." „Diese Voraussetzung ist aber nur für den Fall richtig, wenn das Antigen bzw. der Amboceptor, der das zugesetzte Antigen binden soll, nicht im Reaktionsgemische bleiben, sondern daraus entfernt werden, sei es durch Zentrifugieren oder Abfiltrieren eines etwa entstehenden, die Verbindung enthaltenden Präcipitats oder sonstwie. — Bleiben aber alle diese Körper im Reaktionsgemische, so kann eine Nichtbindung an das Antigen dennoch durch das Eintreten der Hämolyse der entsprechenden Blutkörperchen nicht nachgewiesen werden, denn Hämolyse muß, soweit nicht etwa Komplementablenkung eine Rolle spielt, unter allen Umständen eintreten."

Diese Darstellung unserer experimentellen Voraussetzung ist aber unrichtig. Unsere Voraussetzung war die folgende: Wenn freie oder z. B. an Stromata festsitzende, aus Ochsenblut stammende Receptoren und entsprechende Amboceptoren in angemessenen Mengen miteinander vermischt und $^1/_2$ Stunde bei 37° belassen werden, werden diese beiden einander attrahierenden Körper voneinander gebunden, so wie es geschieht, wenn Ochsenblut und dessen Amboceptor vermischt werden. Wenn nachher zuerst Komplement und dann Blut zugefügt wird, tritt keine Hämolyse auf, weil die Amboceptoren bei der $^1/_2$stündigen Berührung mit den zuerst zugesetzten Receptoren von diesen fixiert sind. Die Verbindung Receptor-Amboceptor scheint allerdings eine reversible Verbindung zu sein (Morgenroth, Meier), aber teils geht sie in eine fixe durch Komplementzusatz über, teils ist sie bei den Blutkörperchen — wo die Reversibilität dieses Prozesses studiert ist — „der Gleichgewichtszustand so beschaffen, daß sich der in Lösung befindliche Anteil der Amboceptoren für gewöhnlich der Beobachtung und Messung entzieht." Die freien, ungebundenen Amboceptoren kommen in geeigneten Mischungen von Receptoren und Amboceptoren, also nur in „minimalen" Mengen (Sachs) vor, und da in allen unseren Versuchen das Komplement vor dem Blute zugesetzt worden ist, wodurch die reversible Verbindung in eine fixe überführt wird, bedeutet diese Tatsache für unsere Versuche

nichts. Daß in Wirklichkeit auch die an Stromata festsitzenden Receptoren die Amboceptoren ebenso binden wie diejenigen der Blutkörperchen und daß also unsere, von mir eben erwähnte Voraussetzung betreffs der Bindung von Receptor und Amboceptor richtig ist, beweisen die oben angeführten Typen I und II, wo die angewandten Stromata reichliche Mengen Amboceptoren gebunden haben. Bekommt man dagegen solche Stromata, welche wie bei den Typen III und IV außerordentlich kleine Quantäten von Receptoren besitzen, so muß man mit sehr kleinen Mengen Amboceptor arbeiten, um die Receptoren überhaupt zu entdecken und die Auffassung zu vermeiden, daß gar keine Amboceptoren fixiert werden und also keine Receptoren da sind.

Es ist hiernach auch klar, daß eine Nichtbindung nach der von uns angewandten Methode sich auch gut nachweisen läßt, wenn man nur sehr kleine Amboceptormengen benutzt, wodurch selbst minimale Schwankungen im Hämolysegrade auffallen.

Gegen einige unserer Versuche, wo wir die Stromata abzentrifugiert haben, bemerkt v. Liebermann, daß er im Hemmungsvermögen der Stromata gegenüber der Hämolyse „zwischen zentrifugierten und nicht zentrifugierten Mischungen keinen Unterschied gesehen" hat, und bezweifelt er also den Effekt des Zentrifugierens in dieser Hinsicht. Wie dies zu verstehen ist, kann ich mir nicht erklären, da doch der Einfluß des Zentrifugierens bei den hierher gehörigen Versuchen so deutlich und so leicht zu beobachten ist, wenn man seine Versuche nur ein wenig danach einrichtet. Unter denjenigen Verfassern, welche diesen Einfluß erwähnen, möchte ich nur auf Bordet, Nolf, und vor allem auf Muir und Fergusson hinweisen. Die letztgenannten zwei Forscher haben ganz speziell die Verschiedenheit der Hemmung zwischen den oberen und unteren Schichten nach dem Zentrifugieren studiert. Hätte v. Liebermann seine Stromaaufschwemmungen gut zentrifugiert und nachher diese und seine hämolytischen Sera gegenseitig austitriert, so wäre die Einwirkung des Zentrifugierens auch ihm sicher nicht entgangen.

Auf die Diskussion v. Liebermanns über die theoretischen Beziehungen von Bangs und meiner gemeinsamen Arbeit und von derjenigen von mir allein zur Ehrlichschen

Seitenkettentheorie möchte ich nicht eingehen. Teils sind nämlich die Versuche, welche v. Liebermann macht, um die Resultate von Bang und mir in Einklang mit der Seitenkettentheorie zu bringen, durch das oben mitgeteilte widerlegt worden, teils ist keine Widerlegung nötig, da die Versuche entweder von einer Mißdeutung der genannten Theorie oder von einer Seitenkettentheorie ausgehen, welche durch eine neue, von keinen Tatsachen gestützten Hilfstheorie ausgebaut ist.

Literatur.

1. H. Sachs: Die Hämolysine und die cytotoxischen Sera. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse der allgem. Pathol. und pathol. Anat. 11.

2. J. Bang und J. Forssman: Untersuchungen über die Hämolysinbildung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8.

3. R. Muir und Al. Fergusson: On the hemolytic receptors of the red corpuscles. Journ. of pathol. and bacteriol. 2.

4. J. Bordet: Les sérums hémolytiques etc. Ann. de l'Inst. Past. 14.

5. J. Forssman: Sind das Antigen und die amboceptorfixierende Substanz der Blutkörperchen identisch oder verschieden? Diese Zeitschr. 9.

6. L. v. Liebermann: Können Antigene Amboceptoren binden? Diese Zeitschr. 11.

Über die Adsorption von Immunstoffen.

Von

Karl Landsteiner und Hugo Raubitschek.

V. Mitteilung.[1])

(Aus dem pathol.-anatom. Institut in Wien.)

(Eingegangen am 11. November 1908.)

Da die Bindungsreaktionen der Immunkörper nach unserer Meinung mit der sogenannten Adsorption[2]) von Kolloiden nahe verwandt sind, haben wir, weil genügende Untersuchungen über die Aufnahme von Eiweißkörpern und Immunstoffen durch Adsorbenzien verschiedener Art nicht vorliegen, eine Reihe von Untersuchungen angestellt, um diese Erscheinungen zunächst in ihren Umrissen kennen zu lernen. Schon die bis jetzt mit Hilfe recht einfacher Methoden gewonnenen Resultate stützen die gemachte Annahme und gestatten einige für die Immunchemie verwertbare Folgerungen. Namentlich ist es wahrscheinlich geworden, daß die Affinität von Immunstoffen, z. B. Toxinen, zu gewissen chemischen Bestandteilen der Zellen und die Einwirkung der Toxine auf die Zellen selbst in Zusammenhang stehen.

Seit unseren Veröffentlichungen sind andere das Thema behandelnde Arbeiten erschienen, deren Resultate den unseren zum Teil nahestehen. Zu diesen Arbeiten gehört die Untersuchung von Bechhold[3]) über die Filtration von Kolloiden durch verschiedenartige Gallerten, da bei der von dem Verfasser

---

[1]) Vgl. Centralbl. f. Bakt. 40, 265; 41, 108; 42, 353, 562.

[2]) Über die Natur dieser Vorgänge vgl. Landsteiner, Zeitschr. f. Kolloidchemie 3, Heft 5, 1908.

[3]) Zeitschr. f. physik. Chem. 60, 257, 1907.

erfundenen Methode das Resultat, wie in besonderen Versuchen nachgewiesen wurde, durch die Adsorptionswirkung des Filtermaterials stark beeinflußt werden kann. Bechhold, der auch mit Toxinen (Arachnolysin, Staphylolysin, Diphtherietoxin) arbeitete, kam ähnlich, wie wir früher gefunden hatten, daß Agglutinine und Toxine zu gewissen adsorbierenden Stoffen eine bemerkenswerte Affinität besitzen, nach seinen Versuchen zu dem Schlusse, daß „Substanzen von sehr intensiver physiologischer Wirkung auch von dem einen oder anderen Filtermaterial sehr intensiv adsorbiert werden".

Wir hatten auch noch beobachtet, daß die einzelnen Substanzen durch verschiedene Adsorbenzien in ungleichem Verhältnis aufgenommen werden, im Gegensatz zu den von Freundlich[1]) untersuchten Fällen der Adsorption krystalloider Stoffe, da dort keine spezifischen Beziehungen zwischen Adsorbens und adsorbierter Substanz nachweisbar waren. Die Bedeutung der chemischen Beschaffenheit des Adsorbens und die Art des Einflusses war für unsere Ansicht mitbestimmend, daß bei der Adsorption der Eiweißstoffe und Immunkörper chemische (elektrochemische) Kräfte mitwirken und salzartige Verbindungen entstehen, wie man sie nach der chemischen Färbetheorie bei der Anfärbung tierischer Gewebe annimmt. So fand es sich, daß das amphotere Eiweiß aus seinen Lösungen, besonders von basischen und sauren anorganischen Stoffen adsorbiert wird, ähnlich wie basische Farbstoffe von sauren Silicaten.

Diese unsere Auffassung wurde von Michaelis[2]), der Adsorptionsversuche mit Fermenten ausführte, adoptiert. Die meisten der von ihm untersuchten Fermente wurden bei entsprechender Reaktion von elektronegativen (Kaolin, Mastix, Arsensulfid) wie positiven Substanzen aufgenommen, verhielten sich also im Sinne unserer Annahme als amphoter, nur Invertin verband sich ausschließlich mit den basischen Stoffen, gar nicht mit Kaolin, reagierte demnach ähnlich wie ein saurer Farbstoff, z. B. Eosin, das auch von Kaolin nicht aufgenommen wird.

Wenn auch die erwähnten Untersuchungen, wie wir meinen, für die Aufklärung einiger der berührten Fragen von Nutzen

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. 57, 385, 1906.

[2]) Handb. von Koranyi; Diese Zeitschr. 7, 488, 1907; 10, 283, 1908; 12, 26, 1908.

waren, so ist doch das Versuchsmaterial des Gegenstandes ein kleines. Die folgenden Versuche sollen einen Beitrag zu seiner Ergänzung bilden.

I. Verhalten der Agglutinine gegen Peptonpräparate.

Wie wir früher fanden, haben Agglutinine nachweisbare Affinität zu manchen Eiweißkörpern; die Verbindungsfähigkeit ist am stärksten bei den wenig spezifischen Pflanzenagglutininen, geringer bei den Serumagglutininen und schwach bei spezifischen Agglutininen der Immunsera.[1]) Die Reaktion der Agglutinine mit Eiweiß läßt sich mit der Anfärbung von Proteinen vergleichen, nur mit der Besonderheit, daß beide Komponenten der wahrscheinlich salzartigen Agglutinin-Eiweißverbindungen amphoter sind. Auf die amphotere Beschaffenheit der Agglutimine ist unter anderem daraus zu schließen, daß bei Konvektionsversuchen pflanzliche Agglutinine je nach der Reaktion der Flüssigkeit zu einem oder dem anderen Pole wanderten.)[2])

Es lag nun nahe, das Verhalten von Agglutininen gegen Eiweißspaltungsprodukte zu untersuchen,[3]) und man konnte leicht erkennen, daß z. B. käufliches Pepton (Witte) eine starke Hemmung der Hämagglutination bewirken kann. Zum Vergleich untersuchten wir das Peptonpräparat Chapoteaut und aus Wittepepton dargestellte Fraktionen.

Versuch.

Ein Teil einer Stammlösung von Abrin oder deren Verdünnung mit 1 %iger Kochsalzlösung wird mit 4 Teilen der Peptonlösungen gemischt und dann 5 Teile 5 %igen gewaschenen Gänseblutes zugefügt. Nach mehrstündigem Stehen wird der Agglutinationseffekt abgelesen (± = schwache, + = deutliche, ++ = starke, +++ = sehr starke Agglutination). — (Darstellung der Peptonpräparate (nach Pick): 10 % Pepton (Witte) wurde mit 1/2 Vol. 95 %igem Alkohol gefällt, der Niederschlag nach dem Abpressen gelöst, neutral mit dem gleichen Volum Ammonsulfat gefällt, der Niederschlag mehrere Male mit 1/2 Vol. Alkohol umgefällt — Heteroalbumose. Das alkoholische Filtrat wurde auf dem Wasserbade verdunstet, neutralisiert, mit dem gleichen Volum Ammonsulfat gefällt und umgefällt, dann aus der Lösung noch einmal mit Alkohol niedergeschlagen.

[1]) l. c.

[2]) Landsteiner und Pauli, Kongreß f. inn. Med. 1908.

[3]) Die Ergebnisse sind kurz im Centralbl. f. Physiol. 20, Nr. 24 erwähnt

— Protalbumose. Aus dem Filtrat wurde nach Zufügen von Ammonsulfatlösung bis zu $^2/_3$-Sättigung filtriert und nun durch Sättigung des Filtrates mit Ammonsulfat die Deuteralbumose B erhalten.)

		$^1/_{100}$-Abrinlösung	$^1/_{10}$-Abrinlösung
	Kontrolle	+++	+++
2,5 %-Lösungen von	Wittepepton	0	++
	Protalbumose	0	++
	Deuteroalbumose B	±	++
	Heteralbumose	0	++
	Pepton Chapoteaut	+	+++
0,25 %-Lösungen	Wittepepton	±	
	Protalbumose	0	
	Deuteroalbumose B	±	
	Heteroalbumose	±	

Deutlich aber nicht so stark wie beim Abrin ist die Wirkung, wenn man normales Serumagglutinin zum Versuch nimmt. Man muß hier zu stärkeren Peptonlösungen greifen. (Versuchsanordnung wie oben; statt der Abrinlösung $^1/_2$ Stunde auf 60° erwärmtes Pferdeserum.)

	Kontrolle	++
10 %-Lösungen	Wittepepton	±
	Protalbumose	+
	Deuteroalbumose B	+
	Heteroalbumose	++
	Pepton Chapoteaut	+

Es ist noch nicht bewiesen, aber recht wahrscheinlich, daß die hemmenden Substanzen die Albumosen selbst sind.[1]) (Alkoholische und Chloroformextrakte von Pepton enthalten den wirksamen Stoff nicht.) Wenn das der Fall ist, so sind die Ergebnisse in unmittelbarem Zusammenhang mit der von uns beobachteten Adsorption der Agglutinine durch Eiweißkörper und haben andererseits wahrscheinlich ein Analogon in der Behinderung der Anfärbung tierischer Fasern durch Wittepepton und der Fällung von Pepton durch Farbstoffe (Suida[2]),

[1]) Einen gegen die Crotinhämolyse wirksamen, nach genügender Reinigung keine Biuretreaktion gebenden Stoffe stellten Jacoby (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 222) und Lust (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 132) dar. Dieser Körper ist nach seinem Verhalten gegen Ammonsulfat (vgl. Lust, S. 140) mit unseren Hemmungsstoffen kaum identisch.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 176, 177.

wobei, wie man meint, Salze der Albumosen mit Farbstoffen gebildet werden. Im Sinne dieser Analogie ist es bemerkenswert, daß tryptischen Gelatosen gegenüber Abrin kein beträchtliches Hemmungsvermögen zeigt und daß andrerseits Leim — vielleicht wegen des Fehlens gewisser aromatischer Gruppen — mit Farbstoffen keine Fällungen gibt. Man könnte vermuten, daß auch für die Bildung der Verbindungen von Proteinen mit Agglutinin diese Momente maßgebend sind und daß dasselbe für das Ausbleiben der Präcipitinbildung nach Gelatineinjektionen gilt,[1]) so daß ähnliche konstitutive Eigenschaften die Färbbarkeit und immunchemische Fällungsreaktionen beeinflussen würden.

Versuch mit Gelatosen, $^1/_{100}$-Abrinlösung und Pferdeserum.

10%ige Gelatine wurde 4 Tage mit Trypsin Rhenania verdaut. Fällung mit gleichem Vol. Ammonsulfat: Gelatose I, Sättigung mit Ammonsulfat: Gelatose II.

		$^1/_{100}$-Abrin
	Kontrolle	+++
2,5%-Lösung	Gelatose I	+++
	Gelatose II	+++
	Wittepepton	0

		Pferdeserum
	Kontrolle	++
10%-Lösung	Gelatose I	++
	Gelatose II	++
	Wittepepton	+

Unverdaute Gelatine gab unter den gleichen Umständen eine deutliche aber nicht starke Agglutinationshemmung. (Mit peptischen Gelatosen werden noch keine Versuche gemacht.)

Auch die Hämagglutination durch Protamine (Clupeinsulfat), Histonsulfat[2]), kolloide Kieselsäure wird durch Pepton Witte gehemmt. Die Fällung von primären Albumosen durch Histon und Protamin (Kossel) ist schon lange bekannt, Deuteroalbumose gab mit diesen Stoffen keinen Niederschlag, wirkte aber doch deutlich agglutinationshemmend. Bei der Kieselsäureagglutination war die Hemmung durch Deuteroalbumose schwach, durch Gelatose stark. Auch die Hämagglutination durch Protamin und Histon wurde durch Gelatosen gestört.

---

[1]) Vgl. über die Bedeutung der aromatischen Kerne für Immunreaktionen die Arbeiten von Pick und Obermeyer.

[2]) Von Herrn Prof. Kossel gütigst überlassene Präparate.

II. Adsorption von Hämolysinen und Hämagglutininen.

Über die Adsorption von Arachnolysin haben in letzter Zeit Bechhold (l. c.) und Belonowsky[1]) Angaben gemacht. Belonowsky beobachtete nämlich eine Herabsetzung der lytischen Wirkung des Arachnolysins durch Zusätze von Cholesterin (und Glykogen). Wir haben diese Beobachtung auch gemacht und fanden außerdem ein gewisses Adsorptionsvermögen des Cholesterins beim Staphylolysin und wie Minz[2]) beim Cobrahämolysin, so daß die Adsorptionswirkung des Cholesterins auf Hämolysine eine ziemlich allgemeine Erscheinung zu sein scheint und die bekannte, besonders starke Wirkung beim Tetanolysin wohl nur ein ausgezeichneter Fall unter vielen ähnlichen ist. Wir fanden eine Affinität für Lysine auch noch bei anderen Stoffen, in beträchtlichem Grade bei Protagon, Fettsäuren (vielleicht auch Neutralfetten), ferner bei Stärke,[3]) bei Eiweißkörpern. Relativ zu den fettähnlichen Stoffen scheint aber die Wirkung der bisher geprüften Eiweißstoffe im allgemeinen geringer zu sein als bei den pflanzlichen Hämagglutininen.[4])

5 ccm der angegebenen Verdünnungen der Stammlösungen wurden mit den fein verteilten Substanzen (Gewicht in Gramm) unter mehrmaligem Umschütteln eine Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann ebenso wie die Kontrollen durch Papier filtriert und ausgewertet. [Angebene Grade der Hämolyse: komplett (c.), fast komplett (f. c.), sehr stark (s. st.), stark (st.), deutlich (d.), schwach (schw.), Spur (Sp.)].

$^1/_{400}$ Arachnolysin.

	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1600}$	$^1/_{3200}$	$^1/_{6400}$
Kontrolle	f. c.	s. st.	schw.	Sp.	0
+ 0,3 Casein	f. c.	st.	Sp.	0	0
+ 0,3 Cholesterin	schw.	0	0	0	0

[1]) Diese Zeitschr. 5, 65, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. 9, 357, 1908.

[3]) Vgl. die Aufnahme mancher Farbstoffe durch Stärke (Fischer, Beih. botan. Centralbl. 18, Abt. I, 414). (Auch käufliche Watte adsorbierte Hämolysine (z. B. Arachnolysin).

[4]) Ein käufliches Nuclein hatte sehr starke Wirkung z. B. auf Arachnolysin. (Vgl. Freund und Grosz, Centralbl. f. inn. Med. 1895, 913.)

$^1/_{500}$ Arachnolysin

	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{8000}$
Kontrolle	c.	f. c.	s. st.	st.	0
0,5 Casein	s. st.	st.	st.	0	0
0,2 Cholesterin	st.	d.	Sp.	0	0
0,5 koaguliertes Pferdeserum (feucht)	c.	f. c.	s. st.	st.	0

$^1/_{250}$ Arachnolysin.

	$^1/_{250}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$
Kontrolle	c.	c.	c.	f. c.	d.
0,2 Protagon-Präp. I[1])	f. c.	st.	Sp.	0	0
0,2 Protagon-Präp. II	0	0	0	0	0

$^1/_{1000}$ Arachnolysin.

	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{16000}$
Kontrolle	c.	s. st.	st.	schw.	0
1,0 Amyl. oryzae	st.	d.	schw.	0	0
1,0 Amyl. tritic.[2])	d.	schw.	0	0	0

$^1/_{100}$ Arachnolysin.

	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1600}$	$^1/_{3200}$	$^1/_{6400}$
Kontrolle	c.	c.	f. c.	s. st.	s. st.	st.	schw.
0,5 Palmitinsäure	f. c.	f. c.	s. st.	st.	0	0	0
0,5 Stearinsäure	f. c.	f. c.	schw.	0	0	0	0
0,5 Tristearin (käuflich)	c.	c.	c.	st.	d.	0	0

$^1/_{1000}$ Arachnolysin.

	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{16000}$
Kontrolle	c.	f. c.	s. st.	st.	d.
+ Pepton[3])	f. c.	st.	schw.	Sp.	0

$^1/_{100}$ Staphylolysin.

	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$
Kontrolle	f. c.	st.	schw.	0
0,2 Protagon	0	0	0	0
0,2 Cholesterin	Sp.	0	0	0
0,5 Amyl. tritic.	d.	0	0	0
0,5 Casein	s. st.	st.	d.	0

---

[1]) Aus Pferdehirn.

[2]) Auch Cobrahämolysin wird von Stärke aufgenommen.

[3]) Peptonlösung bis zu einem Gehalt von 1 % zugefügt.

Cobrahämolysin.[1])

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Kontrolle	c.	c.	c.	c.	c.	st.	d.	0
0,2 Kaolin	c.	c.	st.	d.	d.	schw.	0	0
0,1 Kohle	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2 Cholesterin	f. c.	f. c.	st.	d.	d.	Sp.	0	0

Cobrahämolysin.

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Kontrolle	c.	c.	c.	f. c.	st.	d.	0
0,1 Kaolin	f. c.	f. c.	s. st.	st.	Sp.	0	0
0,3 Casein	c.	c.	f. c.	st.	d.	schw.	0
0,5 koagul. Serumeiweiß (feucht)	c.	c.	f. c.	st.	d.	0	0
0,1 Protagon	f. c.	st.	d.	0	0	0	0
0,2 Stearinsäure	d.	d.	0	0	0	0	0
0,05 Stearinsäure	c.	c.	f. c.	Sp.	0	0	0

In Ergänzung unserer früheren Angaben über Agglutinine haben wir auch an diesen einige Versuche angestellt und eine Aufnahme der agglutinierenden und der toxischen Stoffe des Ricins durch Lipoide nämlich Protagon und Cholesterin nachweisen können.[2])

1/1000 Ricinlösung.

	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000	1/32000
Kontrolle	++	+	+	+	schw.	Sp.
0,2 Cholesterin	+	+	schw.	Sp.	0	0
0,2 Protagon	Sp.	0	0	0	0	0
0,5 Casein	Sp.	0	0	0	0	0

Im Anschluß an die Versuche über Hämolysine haben wir auch den Einfluß geprüft, den ein Zusatz von adsorbierbarem Material (Eiweiß) auf die Adsorption der Lysine hat. Der Effekt war der einer Hemmung der Aufnahme,[3]) und

---

[1]) Lösung von 0,1 % des festen Giftes; zu jedem Röhrchen vor dem Blutzusatz ein zur Lösung hinreichender Lecithinzusatz.

[2]) Ein merkwürdiges Verhalten schien sich bei einigen Absorptionsversuchen mit Agglutininen von Normal- und Immunserum herauszustellen. Danach würden sich diese Substanzen nicht nur, wie wir früher fanden, gegen organische, sondern auch gegen anorganische Adsorbenzien verschieden verhalten. Das erhaltene Resultat, daß nämlich die normalen im Vergleich zu den Immunagglutininen relativ mehr von Kaolin als von Kohle aufgenommen werden, müßte aber noch unter verschiedenen Bedingungen verifiziert werden.

[3]) Ähnlich wirken Zusätze von Wittepepton.

diese Wirkung ist, da das verwendete Eiweiß (Kaninchenserum) die Hämolyse nicht erheblich hemmte eher auf die Adsorption von Eiweiß durch das Adsorbens als auf eine Verbindung des Serumeiweißes mit dem Lysin zu beziehen.[1]) Wenn die Sache sich so verhält, so liegt in dem geringen Gehalt verdünnter Immunkörperlösungen an festen Stoffen überhaupt, ein begünstigendes Moment für die Adsorption und es dürfen solche Lösungen und wesentlich konzentriertere Eiweißlösungen in dieser Richtung nicht ohne weiters verglichen werden; der Nachweis besonderer Beziehungen zu einzelnen Adsorbenzien wird dadurch natürlich nicht tangiert.

Versuch.

Es wurden 5 ccm einer verdünnten Arachnolysinlösung mit je 5 ccm NaCl-Lösung, aktivem und inaktivem Kaninchenserum versetzt und diese Proben einzeln (wie oben) mit Kaolin 0,02 behandelt.

	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000
Arachnolysin + NaCl	c.	f. c.	s. st.	st.	schw.	0
0,02 Kaolin	0	0	0	0	0	0
Arachnolysin + akt. Ser.	c.	f. c.	st.	st.	schw.	0
0,02 Kaolin	f. c.	st.	d.	0	0	0
Arachnol. + inakt. Ser.	c.	f. c.	st.	d.	Sp.	0
0,02 Kaolin	f. c.	st.	Sp.	0	0	0

III. Adsorption von Toxinen.

Aus unseren früheren Versuchen am Tetanustoxin[2]) ging hervor, daß sich dieses Gift mit Lipoiden namentlich den als Protagon[3]) bezeichneten Hirnlipoiden verbindet. Das Bindungsvermögen des Protagons entspricht der Größenordnung nach dem der Hirnsubstanz, und auch darin besteht Übereinstimmung, daß, wenn man die Mengen entsprechend wählt, bei der Injektion von Gemischen des adsorbierenden Körpers und des Giftes ein Schutzeffekt erzielt wird und daß die Verbindung

---

[1]) Über die Verbindungen mehrerer gelöster Kolloide machte Bechhold mit der Filtrationsmethode interessante Beobachtungen. (Vgl. auch Bayer, diese Zeitschr. **18**, 242, 1908.)

[2]) Landsteiner und Botteri, Centralbl. f. Bakt. 42. 562.

[3]) Cholesterin fanden wir im Gegensatz zu Almagia, Lo Sperimentale 1906, nicht stark wirksam (vgl. auch Bull. d. real. Acad. med. di Roma **33**, 1907.

im Tierkörper spaltbar ist, man also durch Injektion eines stark mit Toxin beladenen Protagons Tiere töten kann.

Die Ergebnisse führten unmittelbar zu der Folgerung, daß an dem Bindungsvermögen der Hirnsubstanz für das Toxin — im Tierkörper und im Reagensglas — die Lipoide, im besonderen das Protagon wesentlichen Anteil haben, und legte die Hypothese nahe, daß die schädigende Wirkung des Tetanusgiftes (und vermutlich anderer Toxine) durch eine Veränderung der Lipoideiweißverbindungen der Zellen geschehe, um so mehr als wir zu einer ähnlichen Annahme in bezug auf die Hämotoxine gekommen waren.[1]) Die Versuche ergaben außerdem ein ganz entscheidendes Argument gegen die bekannte Hypothese, daß die tetanusgiftbindende Hirnsubstanz und das Tetanusantitoxin des Serums identisch seien.

Eine vollkommene Bestätigung unserer Befunde erbrachte die Arbeit von K. Takaki.[2]) Dieser Autor verwendete nicht die bekannte Wassermannsche, sondern unsere Versuchsanordnung, d. h. er injizierte die von dem adsorbierenden Stoff abfiltrierte Lösung. Er fand so wie wir, daß giftbindende Substanz sich aus dem Gehirn durch warmen Alkohol extrahieren läßt und ganz vorwiegend in dem beim Erkalten des warmen alkoholischen Extraktes sich ausscheidenden ätherunlöslichen Lipoid, dem sogenannten Protagon enthalten ist. T. untersuchte weiterhin die Effekte der verschiedenen nach dem Verfahren von Thudichum aus dem Protagon dargestellten Substanzen und fand die als Phrenosin und Kerasin bezeichneten Fraktionen als stark giftbindend. Andere Fraktionen waren in geringerem Grade wirksam. Von den Spaltungsprodukten der Cerebroside war die Cerebronsäure sehr wirksam, ein Befund, der vielleicht der von uns beobachteten giftzerstörenden Wirkung von Fettsäuren an die Seite zu stellen ist.

Die ergänzenden Beobachtungen von Takaki und der von ihm hervorgehobene Umstand, daß Protagon ein Lipoidgemenge ist, ändern prinzipiell nichts an der von uns gewonnenen Anschauung, und T. kommt zu demselben Schlusse[3]) wie wir,

[1]) Centralbl. f. Bakt. 39, 309. Mit unseren Schlüssen bezüglich der Hämolyse stimmt die Ansicht von Pascucci überein. (Die Versuche von Pascucci scheinen uns übrigens nicht klar zu beweisen, daß die beobachtete Auflösung von Lipoidmembranen wirklich auf das Tetanushämolysin zu beziehen sind.)

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 288. — [3]) l. c. 297.

daß die Lipoidaffinität des Toxins für das Wassermannsche Phänomen (Giftneutralisierung durch Hirnsubstanz) und für die Aufnahme des Giftes in periphere Nerven von Bedeutung ist.[1][2])

Ganz im Gegensatz zu dem bisher Berichteten kommen Marie und Tiffeneau zu dem Schlusse, daß die Hirnlipoide für die Toxinbindung unwesentlich sind. Die in der ersten Mitteilung[3]) angeführten Gründe sind hauptsächlich die Resistenz der bindenden Substanz des Hirnes gegenüber einem Steapsinpräparat — ein negativer Versuch, der wohl zu keinerlei Folgerungen berechtigt — und dann die geringe Wirksamkeit oder die Unwirksamkeit von Cholesterin und Lecithin, die schon früher bekannt war[4]) und von den Verf. noch einmal nachgewiesen wurde. So ergibt sich für Marie und Tiffeneau der Schluß, daß es ausschließlich Eiweißkörper des Gehirnes sind, die das Toxin binden. Auf unsere Angaben über Protagon nehmen M. und T. erst in ihrer 2. Abhandlung[5]) Rücksicht. Sie finden aber die neutralisierende Wirkung so gering, daß sie ihr keine Bedeutung beimessen und an ihrer geäußerten Ansicht nichts ändern zu müssen glauben. Das Resultat von M. und T., daß 0,05 Protagon nur zwei tödliche Toxindosen neutralisiert (offenbar bei der Wassermannschen Versuchsanordnung), stimmt mit den von uns[6]) und Takaki gefundenen sehr beträchtlich höheren Werten nicht überein. Wir können aber auch aus einem anderen Grunde die Folgerungen von M. und T. nicht annehmen. Die Autoren berücksichtigen nämlich nicht, daß das Protagon der Hirnsubstanz doch sicher nicht mechanisch beigemengt, sondern in Verbindung mit anderen Stoffen darin enthalten ist und man demnach gar nicht erwarten kann, daß

[1]) Bezüglich der von Takaki geäußerten Bedenken wegen der größeren Bindungsfähigkeit der protagonärmeren grauen Substanz u. a.

[2]) Die von Takaki experimentell geprüfte Vermutung, daß die Wirkung des Tetanusantitoxins auf Lipoide zu beziehen sein könnte, ist natürlich von vornherein abzulehnen.

[3]) Annales de l'Inst. Pasteur 22, 289, 1908.

[4]) Vgl. L. und Botteri l. c.

[5]) Annales de l'Inst. Pasteur 22, 664, 1908.

[6]) 0,15 Protagon neutralisierte in unseren Versuchen bei simultaner Injektion 40 letale Dosen. Möglicherweise beruhen die Differenzen auf einer Verschiedenheit der Präparate. Der Protagongehalt des Meerschweinchenhirns dürfte übrigens mit 1% von M. und T. zu niedrig angesetzt sein. (Die angegebene Zahl 10% steht durch einen Druckfehler statt 1%.)

Hirnsubstanz und daraus extrahiertes Protagon gegenüber dem Toxin vollkommen identisch sich verhalten.[1])

Wenn man aber andererseits, nachdem viele vergebliche Versuche gemacht wurden, tetanusbindende Toxinstoffe aus Gehirn zu extrahieren, schließlich einen Stoff mit beträchtlichem Bindungsvermögen gewinnt, wenn dieser Stoff gerade nur in der Tetanustoxin bindenden Hirnsubstanz reichlich vorkommt und wenn bisher keine anderen chemischen Bestandteile mit dieser Fähigkeit in tierischen Geweben gefunden wurden, so wäre es doch schwer begreiflich, wollte man mit Marie und Tiffeneau hier einen Zusammenhang einfach ablehnen. Die Vermutung von M. und T., daß das Protagon Toxin nicht binde, sondern zerstöre, also ganz anders wirke als Hirnmasse, wird durch die von uns mitgeteilte Tatsache unhaltbar, daß man durch die Injektion mit Toxin beladenen Protagons Tiere töten kann und wohl auch dadurch, daß die Mischungsmethode andere Neutralisationswerte gibt als die Adsorptionsmethode.

Wie wir meinen, ist es die wahrscheinlichste Annahme, daß das Tetanustoxin sich im Gehirn mit Lipoideiweißverbindungen vereinigt, die sowohl Eigeuschaften der Fette als der Eiweißkörper besitzen. Dadurch wird es leicht begreiflich, wenn Einflüsse, die den Zustand von Eiweißkörpern verändern, wie Trocknen, Verdauung der Hirnsubstanz auch das Giftbindungsvermögen modifizieren, und ebenso verständlich ist es, daß die Behandlung mit organischen Lösungsmitteln die Bindungsfähigkeit beeinträchtigt und die bindenden Stoffe durch wässerige Flüssigkeiten nicht zu extrahieren sind. Wenn unsere Meinung richtig ist, darf man auch nicht supponieren, daß die Bindungsfähigkeit dem Protagongehalt einfach parallel laufen müsse, da eben die Art der Bindung des Protagons von großer Bedeutung sein muß.[2]) Weitere Aufklärungen könnte hier vielleicht die Unter-

---

[1]) Es sei daran erinnert, daß aus Blutkörperchen hergestellte Stromata gewöhnlich weniger von Hämotoxinen binden als das intakte Blut obwohl sie sicher den wesentlichen Anteil am Bindungsvermögen haben.

[2]) Dieselbe Überlegung gilt bezüglich des größeren Bindungsvermögens der grauen Substanz (vgl. Takaki), deren Lipoide übrigens noch nicht für sich auf ihr Verhalten zum Gift untersucht wurden.

suchung von Lipoid-Proteinverbindungen[1]) des Gehirnes bringen.[2]) Die Erscheinungen der Toxinbindung und Toxinneutralisierung scharf zu trennen, wie M. und T. es tun sollen, halten wir nicht für angezeigt. Aus einer unten wiedergegebenen Beobachtung geht z. B. hervor, daß schon geringe Änderungen der Suspensionsflüssigkeit genügen, um die Spaltbarkeit einer Toxinlipoidverbindung zu beeinflussen. Auch Wolff-Eisner[3]) will Giftattraktion und Giftfixation durch Zellen grundsätzlich trennen und versteht unter Attraktion eine Bindung, die im Tierkörper zurückgeht, so daß nach Injektion der mit Toxin behandelten Zellen Vergiftung eintritt und unter Fixation jene Bindung, die im Tierkörper nicht gelöst wird. Für den Einzelfall kann natürlich die Unterscheidung der größeren oder geringeren Festigkeit der Verbindungen sehr wichtig sein; aber eine prinzipielle Trennung wäre nur begründet, wenn die sogenannte Attraktion und Fixation immer rein zur Beobachtung kämen, während in Wirklichkeit alle beobachteten Bindungen nur quantitativ verschiedene Mittelfälle zwischen den gedachten Extremen, der absoluten Festigkeit und der vollkommenen Spaltbarkeit darstellen dürften.[4])

Wolff-Eisner zieht als Analoga Beispie leaus der Färberei heran und meint, daß den von ihm supponierten zwei Arten von Toxinbindung entsprechend auch zwei verschiedene Färbungsprozesse unterschieden werden können, die chemische Färbung, die durch „indifferente" Lösungsmittel nicht zerstört wird, die physikalische, bei der die Farbe mit Hilfe solcher Lösungsmittel extrahierbar ist. Tatsächlich gibt es aber chemisch nahe verwandte Farbstoffe, von denen die einen echt, die anderen unecht färben.

---

[1]) Vgl. Ulpiani und Lelli, Gaz. chim. ital. 32, I, 466, 1902. zit. nach Oppenheimers Handb. d. Biochem. 1, 145.

[2]) Möglicherweise wären so auch Aufklärungen über das spezifische Bindungsvermögen der Hirnsubstanz verschiedener Tierarten zu erhalten. (Zu diesem Zwecke wäre übrigens auch die genauere qualitative und quantitative Untersuchung der einzelnen Lipoide selbst wünschenswert.)

[3]) Centralbl. f. Bakt. 47, 70.

[4]) Auch in dem Fall der Agglutininbindung gibt es in dieser Beziehung die verschiedensten Abstufungen, obwohl das Wesen der Prozesse offenbar immer das gleiche ist.

Auch Wolff-Eisner spricht sich gegen die Annahme aus, daß Hirnlipoide an der Giftbindung beteiligt seien, aber nur auf Grund von Versuchen mit Lecithin und nach dem Ergebnis der Ätherextraktion des Gehirnes; unsere Versuche über giftbindende Hirnlipoide sind ihm unbekannt geblieben.

Im Anschluß an die referierten Untersuchungen haben wir die Adsorptionserscheinungen bei anderen Toxinen untersucht. (Es ist hier nachzutragen, daß Freund und Groß[1]) in ähnlichen Versuchen schon eine Ausfällung von Diphtherietoxin durch Nucleohiston und Nucleinsäure erhalten haben.)

Versuche mit Diphtherietoxin.[2])

Je 5 ccm $^1/_{50}$ Toxinlösung wurde mit den adsorbierenden Stoffen unter mehrmaligem Umschütteln bei Zimmertemperatur 1 Stunde lang behandelt und die Filtrate durch subcutane Injektion bei Meerschweinchen auf ihre Toxizität geprüft. In der Tabelle ist der Reihe nach das Gewicht der Tiere, die Art und Menge des adsorbierenden Stoffes, das Volumen der injizierten Lösung und der Effekt der Injektion bzw. die bis zum Tode verflossene Zeit in Tagen angegeben.

190	Kontrolle	1,6	† 3 T
175	„	0,7	† 3 bis 4 T
210	„	0,85	† 3 T
190	„	0,4	Oedem, überlebt
140	„	0,4	† 2 bis 3 T
320	„	1,0	† 9 T
265	„	1,0	† 3 T
280	„	1,1	† 3 T
185	Casein 0,4	1,5	starkes Oedem, lebt
180	„ 0,3	1,4	„ „ „
180	„ 0,1	1,4	„ „ „ Nekrose
245	„ 0,2	3,9	† 11 T
215	„ 0,4	2,6	† 3 bis 4 T
210	„ 0,2	1,7	† 5 T
155	Nucleohiston 0,3	1,2	† 2 bis 3 T
275	Serumalbumin (feucht) 0,5	1,8	† 4 T
265	Serumalbumin (feucht) 0,5	1,0	† 3 T
205	Fibrin (feucht) 0,5	0,8	† 5 T
190	Cholesterin 0,4	1,5	† 4 T
175	„ 0,3	1,4	† 2 bis 3 T

[1]) Centralbl. f. inn. Med. 1895, 913 (vgl. auch 1895, 937, 1896, 497).

[2]) Diese Versuchsreihe hat Herr Dr. Abels durchgeführt.

190	Protagon	0,2	1,5	kein Oedem, lebt
185	"	0,3	1,5	" " "
195	"	0,3	1,6	Oedem, Nekrose, lebt
240	"	0,2	3,8	† 5 T
185	"	0,4	2,3	† 3 T
210	"	0,2	1'7	† 3 T

Die Versuchsergebnisse waren, wie die Tabelle zeigt, etwas schwankend, zeigen aber doch sehr deutlich die Giftaufnahme durch Casein und Protagon.

Versuche mit Kobragift.[1])

5 ccm einer 0,1 $^0/_{00}$ Kobragiftlösung wurden in der oben angegebenen Weise behandelt. Intraperitoneale Injektion an Mäusen, die hernach durch 24^h in Beobachtung gehalten wurden. (Späterer Tod der Tiere ist nicht aufgezeichnet.)

19	Kontrolle		0,5	† 90'
16	"		0,5	† 55'
14	"		0,5	† 65'
14	"		0,5	† 70'
15	"		0,5	† 100'
15	"		0,25	† mehrere Stunden
16	"		0,1	überlebt
15	"		0,1	† mehrere Stunden
15	"		0,1	überlebt
14	"		0,1	überlebt
13	Serumeiweiß (feucht)	0,5	1,0	† 40'
14	"	0,5	0,5	† mehrere Stunden
16	Pflanzenvitellin	0,3	1,0	† 45'
16	"	0,3	0,5	† 100'
21	Stearinsäure	0,2	1,0	überlebt
20	"	0,2	0,5	überlebt
18	"	0,2	1,0	† mehrere Stunden
16	"	0,2	2,0	† mehrere Stunden
15	"	0,2	1,0	überlebt
15	"	0,2	0,5	überlebt
12	Tristearin[2])	0,2	1,0	† 50'
15	"	0,2	0,5	überlebt
14	"	0,2	1,0	† mehrere Stunden
15	"	0,2	0,5	überlebt
16	Tripalmitin[2])	0,2	1,0	† mehrere Stunden
15	"	0,2	0,5	überlebt

[1]) Für die Überlassung von Schlangengiften danke ich den Herren Calmette und Prof. H. H. Meyer bestens.

[2]) Durch Schütteln der ätherischen Lösung mit NaOH gereinigt.

18	Protagon[1])	0,2	2,0	† mehrere Stunden
23	„	0,2	1,0	überlebt
18	„	0,2	1,0	überlebt
18	„	0,2	1,0	überlebt
15	„	0,2	1,0	überlebt
14	„	0,2	1,0	überlebt
12	„	0,2	1,0	überlebt
18	„	0,2	0,5	überlebt
20	„	0,2	0,5	überlebt
12	„	0,2	0,5	überlebt
15	„	0,2	0,5	überlebt

Nach diesen Resultaten, d. i. der verzögerten oder selbst aufgehobenen Wirkung der zur Adsorption gebrachten Lösungen, besitzt auch das Neurotoxin des Kobragiftes eine ausgesprochene Affinität zu Lipoiden. Das Beispiel eines anderen Schlangengiftes des Hämorrhagins von Trimeresurus zeigt, wie verschieden und für die einzelnen Substanzen charakteristisch ihr Adsorptionsverhältnis ist. Das Trimeresurusgift z. B., das der Hauptsache nach nicht als Nervengift wirkt, wurde durch die bisher untersuchten lipoiden Stoffe nicht beträchtlich aufgenommen.

Versuch.

26	Kontrolle		0,5	† 40′
18	Kaolin	0,5	0,5	überlebt
22	Protagon	0,5	0,5	† 35′
20	Vitellin	0,5	0,5	† 30′

Im folgenden Versuch wurden Kobra- und Trimeresurusgift parallel geprüft, und zwar unter Verwendung annähernd gleich toxischer Lösungen.

Kobragift.					Trimeresurusgift.				
17	Kontrolle		0,5	† 50	12	Kontrolle		0,5	† 45′
14	„		0,1	† 4—12h	14	„		0,1	† 4h
14	Tristearin	0,5	1,0	† 12h	12	Tristearin	0,5	1,0	† 30′
12	„	0,5	0,5	überlebt	11	„	0,5	0,5	† 40′
13	Tripalmitin	0,5	1,0	† 12h	13	Tripalmitin	0,5	1,0	† 20′
15	„	0,5	0,5	† 12h	13	„	0,5	0,5	† 45′
15	Stearinsäure	0,5	1,0	† 12h	14	Stearinsäure	0,5	1,0	† 60′
13	„	0,5	0,5	† 24h	13	„	0,5	0,5	† 60′

Nach diesem differenten Verhalten wurde es wahrscheinlich, daß man ebenso wie Hämolysin und Neurotoxin auch

---

[1]) Werden stärkere Toxinkonzentrationen angewendet als hier, so ist die adsorbierende Wirkung nicht mehr deutlich zu erkennen.

Neurotoxin und Hämorrhagin durch Adsorption voneinander trennen könne. (Durch Einwirkung von Säuren wurden ähnliche Ergebnisse schon erzielt, Morgenroth. Vgl. Flexner und Noguchi.)

Um das zu demonstrieren, nahmen wir Adsorptionsversuche an Mischungen passend gewählter Mengen von Kobra- und Trimeresurusgift vor.

Versuch.

0,1 der Kobragiftlösung tötete im Vorversuch bei intraperitonealer Injektion eine Maus typisch in 25', 0,25 der Lösung von Trimeresurusgift tötete in 80' mit dem charakteristischen Befunde der Blutungen. 0,1 Kobra- + 0,25 Trimeresuruslösung tötete (wegen der stärkeren Wirkung des Kobragiftes) ohne Blutungen in 20'. Wurden 5 ccm der Kobralösung zweimal hintereinander mit 0,2 Stearinsäure behandelt und abfiltriert, so tötete 0,1 der Lösung in 120', also beträchtlich verzögert; 0,1 einer ebenso behandelten Trimeresuruslösung wirkte etwa wie im Vorversuche, tötete eine Maus in 100' mit Hämorrhagien. Nun wurde ein Gemisch der beiden Gifte zweimal ebenso mit Stearinsäure behandelt und davon ein Volumen injiziert, das vor der Adsorption 0,1 Kobra- + 0,25 Trimeresurusgift enthalten hatte. Jetzt starb das injizierte Tier in 100' mit Hämorrhagien, es war also das absichtlich in langsamer tötender Dosis verwendete Hämorrhagin zur Wirkung gekommen und hatte Blutungen hervorgerufen, während im Vorversuch das Gemisch nur die Kobrawirkung erkennen ließ.

In gleicher Weise konnte die Trennung mit Protagon bewirkt werden.

Versuch.

0,1	Kobragift	† 25'	ohne	Haemorrhagien
0,25	Trimeresurusgift	† 90'	mit	„
0,1	Kobra- + 0,25 Trimeres.	† 30'	ohne	„
0,1	Kobra (2 × mit Protagon behandelt[1])	† 110'	ohne	„
0,25	Trimeres. (2 × mit Protagon behandelt)	† 100'	mit	„
0,1	Kobra- + 0,25 Trimeres. (2 × mit Protagon behandelt)	† 120'	mit	„

Die Verbindung des Kobratoxins mit Protagon ist ebenso wie die entsprechende Tetanustoxinverbindung wenigstens teil-

[1]) 5 ccm + 0,1 Protagon.

weise spaltbar, denn injiziert man Mäusen mit genügend viel Kobragift behandeltes und bis zur Wirkungslosigkeit der letzten Waschflüssigkeit mit Wasser auf der Zentrifuge gewaschenes Protagon, so gehen die Tiere unter den typischen Erscheinungen zugrunde. Man kann auch das Toxin aus seiner Verbindung mit Protagon in vitro frei machen. Der Versuch schließt sich an die Beobachtung[1]) an, daß mit Krystallviolett gefärbtes und vom Überschuß der Farbe durch Waschen befreites Protagon an 1°/₀ NaCl-Lösung viel mehr vom Farbstoff abgibt als an H_2O. Analoge Verhältnisse ließen sich bei der Protagon-Toxinverbindung nachweisen.[2]) (Wir sind im Begriffe, ähnliche Untersuchungen an anderen Immunkörperverbindungen auszuführen.)

0,3 Protagon wurden mit 1,0 ccm einer 1°/₀₀ Kobralösung 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann abzentrifugiert und auf einer raschgehenden Zentrifuge dreimal mit H_2O gewaschen. Nun wurde das Protagon in 2 ccm H_2O verteilt und 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, ausgeschleudert und die Flüssigkeit (A) abgehoben, dann ebenso mit 1°/₀ NaCl-Lösung behandelt und wieder abzentrifugiert (Flüssigkeit B). Die beiden Flüssigkeiten A und B wurden Mäusen injiziert.

Versuch I.

1 ccm	A	überlebt
1 ccm	B	† 2^h
0,1 ccm	B	† innerhalb 24^h.

Versuch II.

1,0 ccm	A	† 70′
0,1 ccm	A	lebt
1 ccm	B	† 15′
0,1 ccm	B	† 60′

Auch diese Versuche sprechen wohl deutlich dafür, daß die Reaktionen von Protagon mit Farbstoffen einerseits, mit Toxinen andererseits verwandten Charakter haben.

Eine Fortsetzung der mitgeteilten Untersuchungen ist sicher nach vielen Richtungen hin wünschenswert, aber auch schon aus dem bisher Ermittelten kann geschlossen werden, daß die Toxine im engeren Sinne und die Cytotoxine zu ver-

---

[1]) Versuche von Dr. Abels.

[2]) Über Behinderung von Kolloidreaktionen durch Elektrolyte vgl. Biltz, Zeitschr. f. Elektroch. 1904, Nr. 51; U. Friedemann, Arch. f. Hygiene 55, 1906.

schiedenen relativ einfachen chemischen Bestandteilen der Gewebe Affinitäten haben, und es ist auch kaum zu bezweifeln, daß diese Affinitäten und die Verbindungsfähigkeit der Toxine mit den Zellen selbst, wie wir schon sagten, in kausaler Beziehung stehen. Speziell den Neurotoxinen und Hämolysinen scheint eine nicht unbeträchtliche Affinität zu Lipoiden ziemlich allgemein eigen zu sein, so daß unsere schon früher gemachte Hypothese[1]), daß die Toxinwirkungen auf einer Zerstörung normaler Eiweißlipoidverbindungen beruhe und der Lipoidgehalt für die Toxinbindung öfters eine ähnliche Bedeutung haben könne, wie nach den Theorien von Overton und Meyer für die Wirkung der Narcotica, an Wahrscheinlichkeit gewonnen hat.

---

[1]) Vgl. L. und Botteri l. c., L. und Jagic, Münch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 27, L. und v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. 39, S. 309.

Über die Darstellung und chemische Beschaffenheit der Xanthomsubstanz nebst Untersuchungen der fettähnlichen doppeltbrechenden Substanz in großen weißen Nieren.[1])

Von

J. Pringsheim.

(Aus der pathologisch-anatomischen Anstalt des städtischen Krankenhauses im Friedrichshain zu Berlin.)

(Eingegangen am 13. November 1908.)

Das Studium der doppeltbrechenden Substanzen, welche man in normalen und pathologisch veränderten Organen beim Menschen findet, ist in den letzten Jahren zu einer immer mehr wachsenden Bedeutung gelangt. Naturgemäß sind es in erster Reihe die pathologischen Anatomen, die dieses Thema bearbeiten, und so existiert von dieser Seite bereits eine ziemlich ausgedehnte und eingehende Literatur über das histologische, mikrophysikalische und mikrochemische Verhalten der in Frage stehenden Substanzen; hier sind besonders die Arbeiten von A. Orgler[2]), C. Kaiserling und A. Orgler[3]), M. Löhlein[4]),

---

[1]) Im Auszuge vorgetragen im Verein für innere Medizin in Berlin am 2. November 1908.

[2]) A. Orgler, Zur Physiologie der Nebennieren. Inaug.-Dissert. Berlin 1898.

[3]) C. Kaiserling und A. Orgler, Über das Auftreten von Myelin in den Zellen und seine Beziehungen zur Fettmetamorphose. Virchows Archiv 167, 1902.

[4]) M. Löhlein, Über Fettinfiltration und fettige Degeneration der Niere beim Menschen. Virchows Archiv 180, 1905.

O. Stoerk[1]), Fr. Schlagenhaufer[2]), Walter H. Schultze[3]) und F. Pinkus und L. Pick[4]) zu nennen.

Durch diese Untersuchungen sind wir über das häufige Vorkommen von fettähnlichen doppeltbrechenden Substanzen im menschlichen Organismus unterrichtet. Wir wissen, daß sie sich unter normalen Verhältnissen stets in der Nebennierenrinde (A. Orgler l. c.), im Corpus luteum, in dem sich rückbildenden Thymus, in normalen Lungenalveolar- und Bronchialepithelien (Schultze l. c.), im normalen Epithel der Gallenblase [Aschoff[5])] findet, daß aber ihre Fundstätten bei pathologischen Prozessen noch weit zahlreicher und mannigfaltiger sind: hier finden sie sich bei entzündlich-degenerativen Nierenprozessen, bei Tumoren — konstant bei den von der Nebennierenrinde ausgehenden benignen und malignen Geschwülsten, gelegentlich in Sarkomen und Carcinomen der Niere oder auch anderer Organe (Bronchien, Uterus, Ovarien) — in den Xanthomen und bei den inneren Xanthomatosen (F. Pinkus und L. Pick l. c.; vgl. auch Störk), in manchen Dünndarmmesenterien, in staphylomykotischem und aktinomykotischem Granulationsgewebe (Schlagenhaufer l. c.), bei vielen entzündlichen Lungenprozessen (Tuberkulose, fibrinöse Pneumonie, Bronchopneumonie), bei Atherom der Aorta und der großen Arterien, ganz allgemein bei alten, inaktiv gewordenen chronischen Eiterungen (Empyem des Wurmfortsatzes, Pyo-

---

[1]) O. Stoerk, Über Protagon und die große weiße Niere. Sitzungsber. d. Wien. Akad., Naturwissenschaftl.-mathemat. Klasse, 115, Abt. III, Febr. 1906.

[2]) Fr. Schlagenhaufer, Über das Vorkommen fettähnlicher doppeltbrechender Substanzen. Centralbl. f. allgem. Pathol. und patholog. Anatomie 1907, Nr. 22.

[3]) Walter H. Schultze, Über doppeltbrechende Substanzeu in der Lunge des Erwachsenen. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges., XII. Tagung, 1908, 226.

[4]) F. Pinkus und L. Pick, Zur Struktur und Genese der symptomatischen Xanthome bei Ikterus und Diabetes. Verhdl. d. Vereins f. inn. Med. in Berlin. Sitzung vom 1. Juni 1908. — Verhdl. d. Berl. dermat. Ges. Sitzung vom 12. Mai 1908. Referat im Arch. für Dermatol. u. Syphilis, 92, 228 ff., 1908. — Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 33.

[5]) Aschoff, Ein Beitrag zur Myelinfrage. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges., X. Tagung, 1906, 166 ff.

nephrose, Pyometra, Pyosalpinx [L. Pick[1])]), im septisch puerperalen Uterus [Fr. Munk[2])]. Für das histologische Verhalten der fettähnlichen, doppeltbrechenden Substanz sind besonders diejenigen Zellformen charakteristisch, die durch infiltrative (vgl. unten) Ablagerung der Substanz zustande kommen [L. Pick: Resorptionsstrukturen l. c.]. Hier liegt die fettähnliche, doppeltbrechende Substanz in Form größerer oder kleinerer Tropfen intracellulär in großen, hellen Zellen von epitheloidem Aussehen, die nach Extraktion dieses Inhalts ein feinschaumiges, wabiges Protoplasma und einen bläschenförmigen, meist gut erhaltenen Kern aufweisen. Mit Scharlach R und Sudan III färbt sich die fettähnliche, doppeltbrechende Substanz etwa so intensiv wie Fett, eine primäre Osmierung gelingt nicht, wohl aber eine sekundäre, und diese sekundär osmierte Substanz ist zum Unterschiede von osmiertem Fett sehr leicht in Xylol und Bergamottöl löslich.

Auch das mikrophysikalische und mikrochemische Verhalten der Substanz ist genügend beschrieben. Sie ist gegen Säuren und Alkalien resistent, dagegen in Äther, Benzol, Chloroform usw. leicht löslich. Bei Behandlung mit Formalin und unter anderen nicht näher bekannten Umständen gehen die Tropfen in charakteristische Nadeln über, die sich aber durch Erwärmen jederzeit wieder in Tropfen überführen lassen.

Ganz anders steht es aber mit der Frage, was denn die doppeltbrechende Substanz chemisch sei. Vorbedingung zur Beantwortung dieser Frage ist die Isolierung der Substanz aus den Geweben und diese ist mit großen Schwierigkeiten verbunden, weil die Methoden recht kompliziert sind und weil man bei der Gewinnung der Substanz mit so großen Verlusten arbeitet, daß sich nur solches Ausgangsmaterial, welches sehr viel von der gesuchten Substanz enthält oder von dem große Mengen zur Verfügung stehen, zur chemischen Verarbeitung eignet. So kommt es, daß die Frage nach der chemischen Natur der doppeltbrechenden Substanz nur wenige Bearbeiter gefunden hat.

---

[1]) L. Pick, Über besondere Strukturen in alten Eitertuben. Verhdl. d. Berl. med. Ges., Sitzung vom 29. Juli 1903, und Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 37.

[2]) Fr. Munk, Kommen doppeltbrechende Substanzen (Myelin) bei der fettigen Degeneration des Herzmuskels vor? Inaug.-Diss., Berlin 1908.

A. Schmidt und Fr. Müller[1]) haben als erste sich einer solchen Aufgabe zugewandt und die von Virchow beschriebenen Myelinkugeln des Sputums einer chemischen Untersuchung unterzogen. Sie stellten fest, daß diese zum größten Teile aus Protagon bestanden. Ebenso gewannen Müller und Simon[2]) aus pneumonischen Lungen Protagon.

Orgler und Kaiserling (l. c.) äußern sich in ihrer Arbeit über den chemischen Charakter der doppeltbrechenden Substanz überhaupt nicht.

Adami und Aschoff[3]) suchten der Frage auf eine besondere Art näherzukommen. Nachdem schon Klotz[4]) die Vermutung geäußert hatte, es könne sich in manchen Fällen von doppeltbrechender Substanz (spez. bei atheromatösen Aorten) sehr wohl um seifenartige Verbindungen handeln, untersuchten die obengenannten Autoren eine große Reihe derartiger Verbindungen auf ihre Ähnlichkeit mit der in den Organen vorkommenden doppeltbrechenden Substanz. Den Hauptnachdruck legten sie auf die Bildung flüssiger Krystalle. Die größte Ähnlichkeit mit der doppeltbrechenden Substanz zeigten die Fettsäureester des Cholesterins und des Cholins, besonders die Ölsäureester. Sie weisen ferner darauf hin, daß diese Ester sehr leicht Neutralfett lösen, wobei sich ihr Schmelzpunkt entsprechend ändere, ohne daß dabei — wenigstens bis zu einem gewissen Mischungsverhältnisse — die Doppelbrechung verschwinde. Solche Mischungen von Neutralfett und Cholesterin und Cholinfettsäureestern könnten nach Adami und Aschoff die im Organismus vorkommende fettähnliche doppeltbrechende Substanz vorstellen. Einen ähnlichen Standpunkt,

---

[1]) A. Schmidt, Über Herkunft und chemische Natur der Myelinformen des Sputums, Berl. klin. Wochenschr. 1898, Nr. 4. — Fr. Müller, Zusatz zu vorstehender Abhandlung. Ebenda.

[2]) Simon, Untersuchungen über die Lösungsvorgänge bei der krupösen Pneumonie. Arch. f. klin. Med. 70, 604ff., 1901.

[3]) J. G. Adami und L. Aschoff, On the Myelins, Myelin Bodies and Potential Fluid Crystals of the Organism. Proc. Roy. Soc. 78, 359ff., 1906. — Aschoff, Ein Beitrag zur Myelinfrage. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges. X. Tagung, 1906, 166.

[4]) Klotz, Journ. of Exper. Med. 7, Nr. 6, 1905. Referat nach Adami und Aschoff l. c.

vorzüglich in der Hinsicht, daß die in Frage stehende Substanz nichts Einheitliches ist, vertritt auch Dietrich.[1])

Beneke[2]) äußerte die Vermutung, daß die doppeltbrechenden Tropfen, speziell in der Lunge nichts anderes seien als ein Quellungszustand des Neutralfettes in alkalischer Lösung, der mit der Bildung von Seifenmembranen verbunden ist. Er stützt diese Behauptung auf die Beobachtung, daß die „Fetttröpfchen" der Fettkörnchenzellen im (alkalischen) Sputum in einigen Tagen in „Myelin"[3]) übergehen, ebenso auch die Fettkörnchenzellen bei pneumonischen Infiltraten. Schon früher[4]) hatte Beneke künstlich eine entsprechende Fettemulsion in alkalischer Lösung hergestellt und konstatiert, daß sich diese mit einer Seifenmembran umgebenen Fetttropfen stark mit Methylenblau färbten. Diese Versuche machte Beneke im Anschluß an Untersuchungen über die „Fetttropfen" in der Leber bei kongenitaler Syphilis. Jene Tropfen sieht er auf Grund ihrer Färbbarkeit mit Methylenblau, ferner auf Grund der Tatsache, daß bei der Wassermannschen Komplementablenkung der Extrakt der syphilitischen Leber durch ölsaures Natron, also eine Seife, ersetzt werden kann, ebenfalls als Fetttropfen, die mit einer Seifenmembran umgeben sind, an.[5])

Eingehende chemische Untersuchungen über das Wesen der doppeltbrechenden Substanzen in Organen sind bisher nur

---

[1]) Dietrich, Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges, X. Tagung, 1906, 169.

[2]) Beneke, Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges, XII. Tagung, 1908, 231.

[3]) Damit ist nicht der morphologische Begriff gemeint, sondern die durch physikalisch-optische Eigenschaften charakterisierte doppeltbrechende Substanz.

[4]) Beneke, Zur Wassermannschen Syphilisreaktion. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 15.

[5]) Inwieweit die folgenden Erörterungen für die „Fetttropfen" der Leber Gültigkeit haben, kann ich nicht entscheiden, da ein wichtiger Punkt, nämlich die Untersuchung dieser Tropfen im polarisierten Lichte noch aussteht. Ein Unterschied zwischen den Tropfen in den luetischen Lebern und den doppeltbrechenden Tropfen anderer Organe (Xanthom, Nieren) besteht schon darin, daß erstere sich mit Methylenblau färben, letztere dagegen nicht (vgl. weiter unten).

von Panzer[1]) an dem Material von Stoerk und Schlagenhaufer gemacht worden. Aus diesen Arbeiten geht zunächst so viel mit Sicherheit hervor, daß die doppeltbrechenden Substanzen, auch wenn sie histologisch, optisch und tinktoriell stets das gleiche Verhalten zeigen, chemisch nicht immer die gleichen Körper sind. Man muß im wesentlichen zwei Arten unterscheiden. In der Nebennierenrinde und in allen Tumoren, die von ihr ausgehen, findet sich nach Panzer ein doppeltbrechender Körper, der Phosphor und Stickstoff enthält, und zwar ungefähr in denselben Mengen wie das aus Gehirn isolierte Protagon. In krankhaft veränderten Nieren, in Dünndarmmesenterien, in staphylomykotischem Granulationsgewebe (im ganzen untersuchte Panzer 7 Paar Nieren, 2 Mesenterien und Granulationsgewebe in einem Fall) findet sich eine doppeltbrechende Substanz, die keinen Phosphor und keinen Stickstoff enthält und die als Ester des Cholesterins und anderer benzollöslicher, nicht genauer untersuchter Alkohole mit gesättigten und auch ungesättigten höheren Fettsäuren aufzufassen ist. Sicherlich ist diese Substanz als eine Mischung verschiedener derartiger Ester anzusehen, die im einzelnen Falle verschieden ist. Dies beweist die Verschiedenheit der Schmelzpunkte, ferner die Tatsache, daß in einem Falle eine ungesättigte Säure vorhanden ist, im andern nicht. Die ungesättigte Säure ist nach Panzer die Ölsäure oder ihr Polymeres, die Elaidinsäure, die gesättigten Säuren wahrscheinlich Palmitin- und Stearinsäure. Wieder eine andere Substanz scheint sich in der Intima der großen Gefäße bei atheromatösen Prozessen zu finden, denn es gelang Panzer (l. c.) nicht, mit derselben Methode, mit der er bei den Nieren zum Ziele kam, die doppeltbrechende fettähnliche Substanz aus den atheromatösen Gefäßen zu isolieren.

Zwischen den beiden Hauptarten der doppeltbrechenden Substanz, der stickstoff- und phosphorhaltigen und der stickstoff- und phosphorfreien, scheint zunächst ein prinzipieller Unterschied zu bestehen. Bei näherer Betrachtung, insbesondere bei Berücksichtigung ihrer chemischen Struktur zeigt sich aber,

---

[1]) Panzer, Über das sog. Protagon der Niere. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 519, 1906. — Doppeltbrechende Substanzen aus pathologischen Organen. Ebenda, 54, 239, 1907.

daß dem nicht so ist. Fr. Kraus[1]) hebt hervor, daß die Protagone bei der Spaltung Cerebroside liefern, die ihrerseits bei der Spaltung u. a. einen Atomkomplex geben, der bei energischer Oxydation in höhere Fettsäuren übergeht. Damit ist die Verwandtschaft mit den stickstoff- und phosphorfreien Cholesterinfettsäureestern gegeben, die überdies auch in dem gleichen physikalischen, optischen und mikrochemischen, einschließlich färberischen Verhalten ihren Ausdruck findet. L. Pick hat auf diese chemische und physikalische Verwandtschaft aller bisher in menschlichen Organismen bekannten fettähnlichen doppeltbrechenden Substanzen nachdrücklich hingewiesen.

Danach könnte es den Anschein haben, als ob der Feststellung der Tatsache, ob die doppeltbrechende Substanz in einem bestimmten Falle ein Protagonkörper oder ein Cholesterinfettsäureester oder irgendein anderer verwandter Körper ist, kein allzu großer Wert zukommt. Dem ist aber nicht so, weil naturgemäß die genaue chemische Natur der doppeltbrechenden Substanz von ausschlaggebender Bedeutung sein muß für die Frage nach der Entstehung der doppeltbrechenden Substanz. Es existieren hier drei Meinungen.

A. Orgler[2]) nimmt an, daß es sich bei dem Auftreten von doppeltbrechender Substanz nicht um eine Vermehrung, sondern nur um ein Sichtbarwerden oder Auskrystallisieren der schon vorher im Zellleib vorhandenen Substanz handle.

Stoerk (l. c.) glaubt, daß, speziell in den entzündlich veränderten Nieren, die doppeltbrechende Substanz oder wenigstens das in ihr enthaltene Cholesterin aus Abbauprodukten des Protoplasmas entstände.

L. Pick und Pinkus (l. c.) endlich stellen sich die Entstehung der doppeltbrechenden Substanz in bestimmten Fällen auf infiltrativem Wege vor. Es betrifft dies in erster Linie die interessanten Fälle von symptomatischer Xanthombildung bei Ikterus und bei Glykosurie, jener eigentümlichen Hautaffektion, deren klinische Eigenheiten von Pinkus (l. c.) des näheren erläutert werden. Über die Beziehungen zwischen den genannten Allge-

---

[1]) Fr. Kraus, Über Fettdegeneration und Fettinfiltration. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges., XIV. Tagung, 1904, 37ff.

[2]) A. Orgler, Über den Fettgehalt normaler und in regressiver Veränderung begriffener Thymusdrüsen. Virchows Archiv 167, 1902.

meinerkrankungen und der Ablagerung von doppeltbrechender Substanz in den Xanthomen haben die Autoren folgende Anschauung entwickelt: Beim Ikterischen und beim Diabetiker weist das Blut einen erhöhten Cholesteringehalt auf, wie chemische Untersuchungen [Arbeiten von Flint[1]) und Pagès[2]) bei Ikterus, von B. Fischer[3]) und Klemperer u. Umber[4]) bei Diabetes] übereinstimmend gezeigt haben. Dieses Cholesterin kreist nicht frei im Blute, sondern ist, wie die Untersuchungen von Hürthle (s. unten) zuerst gezeigt haben, an höhere Fettsäuren, speziell Palmitin- und Ölsäure gebunden. Die Xanthomatose der Haut und die innere Xanthomatose entsteht nun in solchen Fällen durch Ablagerung des im Blute kreisenden Cholesterinfettsäureesters in den Bindegewebszellen und Endothelzellen der Cutis und auch gelegentlich in den Zellen innerer Organe. Diese außerordentlich ansprechende Annahme, die die beiden Autoren wesentlich durch Indizien begründen, wäre als sichere Tatsache erwiesen, wenn der bis jetzt noch fehlende Nachweis zu erbringen wäre, daß die doppeltbrechende Substanz im xanthomatösen Gewebe wirklich Cholesterinfettsäureester ist. Aus diesem Grunde hat mich Herr L. Pick veranlaßt, eine chemische Untersuchung der fettähnlichen doppeltbrechenden Substanz in einem Falle von Xanthomatose der Haut und der Dura mater bei einer chronisch ikterischen Frau mit hypertrophischer Lebercirrhose auszuführen, den er gemeinschaftlich mit Herrn F. Pinkus beobachtet und in seinem klinischen und pathologisch-anatomischen Verhalten ausführlich beschrieben hat (l. c.).

Das zu verarbeitende Material wurde mir von den Herren L. Pick und F. Pinkus zur Verfügung gestellt, die chemischen Untersuchungen führte ich in der physiologisch-chemischen

---

[1]) A. Flint fils, Recherches expérimentales sur une nouvelle function de foie. Paris 1868. Referat bei B. Fischer l. c.

[2]) Pagès, De la cholestérine et son accumulation dans l'économie. Thèse inaug. de Strasbourg 1869. Referat bei B. Fischer l. c.

[3]) B. Fischer, Über Lipämie u. Cholesterinämie, sowie über Veränderungen des Pankreas und der Leber bei Diabetes mellitus. Virchows Archiv 172, 30 ff. u. 218 ff., 1903.

[4]) Klemperer u. Umber, Zur Kenntnis der diabetischen Lipämie, Zeitschr. f. klin. Med. 61, 145 ff., 1907. — II. Mitteilung: Ibidem 65, 340 ff., 1908.

Abteilung des städtischen Krankenhauses im Friedrichshain unter Herrn Prof. Boruttau aus. Für die Unterstützung meiner Arbeit spreche ich den Herren auch an dieser Stelle meinen Dank aus.

Es konnten mir zur chemischen Untersuchung nur 1,9 g Dura und 14,6 g Haut zur Verfügung gestellt werden, also für chemische Zwecke eine minimale Menge. Zunächst handelte es sich darum, die in Frage stehende Substanz aus den Geweben zu isolieren und möglichst rein darzustellen. Über die beste Art der Gewinnung der Substanz Vorversuche anzustellen, war wegen der geringen Menge des mir zur Verfügung stehenden Materials von vornherein ausgeschlossen; ich mußte bald ein Verfahren einschlagen, das sicher zum Ziel führte. Die gegebene Methode war die von Panzer bei seinen Untersuchungen benutzte, da er da mit dieser eine doppeltbrechende Substanz isoliert hatte, die, wie oben erwähnt, Cholesterinfettsäureester enthielt.

Die Methode war im einzelnen folgende:

„Die mit der Schere zerkleinerten Organe wurden mit 95%igem Alkohol übergossen und, um sie zu entwässern, längere Zeit in Alkohol belassen, wobei derselbe wiederholt gewechselt wurde. Die Organe wurden dann weiter mit Hilfe einer Wurstmaschine zerkleinert und nun in Aceton gebracht. Die Behandlung mit Aceton, welche die Entfernung der Hauptmenge des Fettes bezweckt, wurde durch wenigstens drei Tage fortgesetzt; auch das Aceton wurde mehrmals erneuert. Die abgegossenen Flüssigkeiten, Alkohol und Aceton wurden filtriert, das Filter samt dem Ungelösten mit dem zerkleinerten Organe vereinigt und mehrmals mit Aceton ausgekocht. Die filtrierten Auszüge wurden über Nacht in den Eiskasten gestellt, wobei sich die gesuchte Substanz in farblosen Kryställchen abschied. Das Auskochen des Organs mit Aceton wurde so oft wiederholt, bis sich die filtrierte Flüssigkeit nach 24stündigem Stehen im Eiskasten nicht mehr getrübt hatte.

Jede dieser Flüssigkeiten wurde nun eiskalt durch ein kleines Filterchen filtriert, die auf dem Filter gebliebenen Krystalle mit wenig in Eis gekühltem Aceton gewaschen und auf dem Filter mit Chloroform übergossen, worin sie sich sehr leicht lösten. Die einzelnen Chloroformlösungen wurden in einem tarierten Wägegläschen vereinigt, bei mäßiger Wärme

verdunstet und der Verdunstungsrückstand im Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Die so erhaltenen Krystalle, im folgenden als Krystalle A bezeichnet, wurden, nachdem ihr Gewicht bestimmt war, für weitere Versuche durch wiederholtes Umkrystallisieren aus heißem Aceton gereinigt, wofern nicht für den Versuch auch weniger reine Substanz genügte. Das Umkrystallisieren wurde so oft wiederholt, bis der Schmelzpunkt konstant blieb. Jede der beim Umkrystallisieren abfiltrierten Mutterlaugen wurde verdampft und das Gewicht des Abdampfrückstandes nach dem Trocknen im Vakuum bestimmt. Es galt mit als Kriterium einer gewissen Reinheit der Krystalle, wenn die Menge des Abdampfrückstandes der Mutterlauge sehr gering war."

„Alle Flüssigkeiten, welche vor der Wägung der Krystalle A abgefallen waren, nämlich die von dem zerkleinerten Organe abgegossenen und abfiltrierten Alkohol- und Acetonportionen und die einzelnen Acetonmutterlaugen, welche nach dem Auskochen des Organs und nach dem Abkühlen des filtrierten Auszuges von den abgeschiedenen Krystallen abfiltriert worden waren, sowie der letzte Acetonauszug, welcher beim Abkühlen im Eiskasten klar geblieben war, wurden vereinigt, zunächst aus dem Wasserbade soweit als möglich destilliert, der Destillationsrückstand auf dem Wasserbade getrocknet und der getrocknete Abdampfrückstand in derselben Weise, wie bei der Gewinnung der Krystalle A beschrieben ist, wiederholt mit Aceton ausgekocht. Beim Erkalten schied sich die Substanz meist noch nicht rein genug aus, es war ihr gewöhnlich Fett beigemengt. Ein- oder zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Aceton genügte jedoch, um sie in homogenen Krystallen frei von amorphen Beimengungen zu erhalten. Dann erst wurden sie wie die Krystalle A zur Wägung gebracht. Im folgenden ist diese zweite Krystallisation als Krystalle B bezeichnet."

Es wurde zunächst zur Verarbeitung des Durastückes geschritten. Die auf seiner Innenfläche befindliche gelblichweiße Schicht, welche mikroskopisch fast nur aus doppeltbrechender Substanz bestand, während das übrige fibröse Duragewebe völlig frei von derselben war, wurde abgekratzt und nur diese Schicht, deren Gewicht 0,42 g betrug, zur Untersuchung verwendet.

Es wurden gewonnen:

Krystalle A	. . .	0,005 g
Krystalle B	. . .	0,069 g
	Zusammen	0,074 g

Um einen Anhaltspunkt für die Menge Substanz zu gewinnen, die überhaupt in dem Organstück enthalten war, wurde nach dem Vorgange von Panzer die in den Acetonmutterlaugen noch gelöst zurückgebliebene Substanz aus der Löslichkeit derselben in eiskaltem Aceton annähernd berechnet.

Die letzte, also reinste Mutterlauge der Krystalle A enthielt 0,003 g Abdampfungsrückstand. Da die Menge dieser Mutterlauge 1,68 g betrug, so berechnet sich die Löslichkeit der doppeltbrechenden Substanz auf 0,17 g in 100 g resp. 0,21 g in 100 ccm eiskalten Acetons. Es sind dies ungefähr dieselben Werte, die Panzer in seinen Untersuchungen erhielt.

Da nun bei der Gewinnung und dem Umkrystallisieren der Krystalle B 93 ccm Mutterlauge abfielen, so beträgt die Menge der hierdurch verlorenen Substanz 0,195 g. In dem ganzen verarbeiteten Durastücke fanden sich also 0,269 g doppeltbrechender Substanz, d. h. die Dura enthielt 14,2 % doppeltbrechende Substanz. Die xanthomatöse Auflagerung der Dura enthielt 64,1 %.

Die Krystalle A schmolzen scharf bei 67,5° C (Untersuchung im einseitig geschlossenen Capillarrohr, unkorrigierter Schmelzpunkt), die Krystalle B unscharf zwischen 64 und 65° C. Auch durch einmaliges Umkrystallisieren wurde kein konstanterer Schmelzpunkt erreicht. Ein weiteres Umkrystallisieren verbot die geringe Menge der zur Verfügung stehenden Substanz. Makroskopisch erschienen beide Krystallformen als ein weißliches Pulver. Da die Menge der Krystalle A, welche die gesuchte Substanz offenbar am reinsten enthielt, zur Untersuchung zu gering war, wurden die Krystalle A und B gemischt und gemeinsam untersucht. Zunächst wurde das mikroskopische, das mikrophysikalische und mikrochemische einschließlich färberische Verhalten geprüft. Zu diesem Zwecke wurden geringste Mengen der Substanz in einem kleinen Tropfen Chloroform gelöst und dieser auf einen Objektträger gebracht. Das Chloroform wurde erst bei Zimmertemperatur abgedunstet und dann die Krystalle im Exsiccator völlig getrocknet. Die entsprechenden Reaktionen, Färbungen

usw. wurden auf dem Objektträger vorgenommen und die Untersuchungen in Glycerin ausgeführt. Mikroskopisch besteht die Substanz aus Nadeln verschiedener Größe, die in ihren ausgebildeten Formen mehr oder weniger plump und leicht geschwungen erscheinen. Daneben finden sich vereinzelt auch schollige Gebilde. Schollen wie Nadeln sind ausgesprochen doppeltbrechend. Beim Erwärmen auf etwa 100° gehen die Nadeln und Schollen in Tropfen über, die entsprechend der verschiedenen Größe der Gebilde, aus denen sie entstanden sind, sehr wechselnde Größe zeigen. Die Tropfen zeigen ebenfalls das Phänomen der Doppeltbrechung aufs schönste. Sie besitzen bei gekreuzten Nikols im Zentrum ein schwarzes Kreuz, dessen Arme den Tropfen in vier helle Quadranten teilen. Die Dicke des dunklen Kreuzes ist bald sehr gering, bald aber so groß, daß von den doppeltbrechenden Quadranten nur vier helle Punkte an der Pheripherie der Kugel übrig bleiben. Beim Erhitzen auf höhere Temperaturen verlieren die Tropfen die Fähigkeit der Doppelbrechung. Wenn man ein solches Präparat unter dem Mikroskop langsam abkühlen läßt, so tritt bei einer bestimmten Temperatur plötzlich wieder Doppelbrechung ein. Bei längerem Aufbewahren in Glycerin gehen Nadeln und Schollen sowie die Tropfen sekundäre Veränderungen unbekannter Art ein und verlieren zum Teil die Fähigkeit der Doppelbrechung.

Die Prüfung der Löslichkeitsverhältnisse der Schollen, Nadeln und Tropfen gab folgende Resultate: Sie lösen sich in Aceton, Benzol, Benzin, Xylol, Chloroform, Äther, Anilinöl, siedendem Alkohol, dagegen sind sie unlöslich in Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Ammoniak, Natron- und Kalilauge, Schwefelammonium. In kaltem Alkohol sind sie nur sehr wenig löslich.

Die Jodschwefelsäurereaktion (Zusatz von verdünnter Lugolscher Lösung und einem Tropfen hochprozentiger oder konz. Schwefelsäure) fiel negativ aus. Dabei gingen die Nadeln in Tropfen über, was wohl auf die Hitzewirkung zurückzuführen ist. Mit Sudan III (Färben $^1/_2$ Stunde mit gesättigter Lösung in 80 $^0/_0$igem Alkohol) und Scharlach R (Färben 10 Min. mit der alkalisch-alkoholischen Lösung von Herxheimer) färben sich Schollen, Tropfen und Nadeln hellrosa bis rot, die größeren

nehmen einen dunkleren Farbenton an als die kleineren. Ein deutlicher Unterschied gegenüber der Färbung von Fetttropfen ist nicht zu konstatieren. Die Fähigkeit der Doppelbrechung bleibt durchweg erhalten.

Mit Osmiumsäure (Färben 3 bis 4 Tage in Flemmingscher Chromosmiumessigsäure) werden Nadeln, Schollen und Tropfen rauchgrau bis grauschwarz gefärbt. Eine intensive Schwärzung konnte nicht beobachtet werden. Diese tritt aber beim Nachbehandeln mit Alkohol ein. Gleichzeitig hört die Fähigkeit der Doppelbrechung, die vor der Alkoholbehandlung nur wenig beeinträchtigt war, völlig auf. Die sekundär osmierte Substanz ist sehr leicht in Xylol löslich. Beim Aufbewahren in Glycerin verlieren die Nadeln, Schollen und Tropfen in einigen Wochen ihren schwarzen Farbenton und erscheinen grau bis bräunlich.

Mit Anilinfarben konnte weder bei den Schollen noch bei den Nadeln noch bei den Tropfen eine Färbung erzielt werden, Geprüft wurden einfache (Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett, Bismarkbraun, Saffranin) und verstärkte (Anilinwassergentianaviolett, Carbolfuchsin, Löfflers Methylenblau) Anilinfarben. Die Doppelbrechung wurde nicht beeinträchtigt.

Dann wurde die chemische Untersuchung begonnen. Das Material reichte aber nur noch zu einer qualitativen Untersuchung auf Phosphor und Stickstoff. Zum Nachweis des ersteren wurde die Probe mit molybdänsaurem Ammoniak, zum Nachweise des letzteren die Lasseignesche Probe ausgeführt. Beide Proben fielen negativ aus, während die Kontrollproben mit gleich großen Mengen Hühnereiweiß resp. Casein ein deutlich positives Resultat gaben.

Damit war das Material erschöpft, und es mußte nun die xanthomatöse Haut verarbeitet werden. Von dieser stand mir eine größere Menge, nämlich, wie oben erwähnt, 14,6 g zur Verfügung. Davon ließen sich noch Unterhautzellgewebe sowie einzelne Hautpartien, die xanthomfrei erschienen, im Gesamtgewichte von 3,6 g lospräparieren, so daß ich mit einem Ausgangsmaterial von 11,0 g arbeitete.

Es wurde die doppeltbrechende Substanz in genau derselben Weise isoliert und dargestellt wie bei der xanthomatösen Dura und die Gesamtmenge ebenso wie dort annähernd berechnet. Ich erhielt folgende Zahlenwerte:

Krystalle A	=	0,068 g
„ B	=	0,367 g
In den Mutterlaugen 200 ccm	=	0,420 g
Gesamtmenge	=	0,855 g

Dies entspricht einem Gehalte von 7,773°/₀. Der Schmelzpunkt der Krystalle A war 67,5° C (Untersuchung im einseitig geschlossenen Capillarrohr. Unkorrigierter Schmelzpunkt), der der Krystalle B wurde erst nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heißem Aceton konstant: er betrug 65° C.

Das mikroskopische optische, physikalische und färberische Verhalten entsprach vollkommen dem Verhalten der aus der Dura gewonnenen Substanz. Ebenso wie diese erwies sie sich frei von Phosphor und Stickstoff. Damit ist auch nach der chemischen Seite hin die Identität der Hautxanthomatose mit der inneren Xanthomatose erwiesen.

Zur weiteren Untersuchung wurde, alles was von den Krystallen B noch übrig war, sowie ein Teil der Krystalle A — der Rest derselben wurde zu Demonstrationszwecken aufgehoben — der Verseifung unterworfen. Diese wurde in Benzollösung mit Natriumalkoholat vorgenommen, wie es Panzer ebenfalls bei seinen Untersuchungen getan hatte: „Die Substanz wurde in Benzol gelöst und Natrium in kleinen Stückchen hinzugetan. Darauf wurde so lange absoluter Alkohol in kleinen Mengen zugesetzt, bis alles Natrium gelöst war. Nach 24stündigem Stehen wurde filtriert und die abgeschiedenen Seifen mit Benzol ausgewaschen. Filtrat und Waschflüssigkeit wurden vereinigt und wiederholt mit immer neuen Mengen Wassers ausgeschüttelt, so lange, bis die wässerige Lösung nicht mehr alkalisch reagierte. Das im Scheidetrichter abgetrennte Benzol wurde bei mäßiger Wärme verdunstet."

Der Rückstand bestand makroskopisch aus einem weißen Pulver, mikroskopisch aus feinen farblosen Nadeln und kurzen Stäbchen und kleinen Plättchen, die alle doppelte Lichtbrechung besaßen. In heißem Alkohol löste sich der Rückstand restlos auf und krystallisierte beim Erkalten in großen rhombischen Tafeln mit ausgebrochenen Ecken aus, wie sie für Cholesterin typisch sind. Der Schmelzpunkt der Substanz betrug 144,5° C (Untersuchung im einseitig geschlossenen Capillarrohr, unkorrigierter Schmelzpunkt). Die mikroskopische Jodschwefelsäure-

reaktion fiel stark positiv aus, ebenso die Salkowskische Probe[1]) (etwas in Chloroform gelöste Substanz wird mit dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure versetzt. Die Chloroformlösung wird sofort blutrot, und diese Farbe geht nach dem Ausgießen in eine Schale durch Blau und Grün in Gelb über). Ebenso stark positiv war der Ausfall der Liebermannschen Reaktion[2]) (Lösen der Substanz in Essigsäureanhydrid, tropfenweises Zusetzen von konz. Schwefelsäure; Eintreten einer roten Färbung, die durch Blau in Grün übergeht); auch in der Modifikation von Burchard[3]) (Lösen in Chloroform, Zusatz von etwas Essigsäureanhydrid und vorsichtiger Zusatz von Schwefelsäure) war die Probe stark positiv. Auch die Lifschützsche Reaktion (Kochen der Substanz mit einigen Krystallen von Benzoylsuperoxyd und Eisessig, Unterschichten mit konz. Schwefelsäure, Auftreten eines kirschroten Ringes, der nach oben in Blau und Grün übergeht) fiel stark positiv aus.

Dieselben Reaktionen wurden nun auch mit der ursprünglichen unverseiften Substanz angestellt. Sie fielen sämtlich positiv, aber äußerst schwach aus.

„In den vereinigten wässerigen Flüssigkeiten wurden nun die mit Benzol gewaschenen Seifen aufgelöst, und diese Lösung wiederholt mit immer neuen Portionen Benzol ausgeschüttelt. Dabei konnten schwer trennbare Emulsionen dadurch vermieden werden, daß die Seifenlösung vor dem Ausschütteln mäßig erwärmt wurde. Die vereinigten filtrierten Benzolportionen wurden verdunstet.“ Sie hinterließen dabei keinen Rückstand.

„Die wässerige mit Benzol ausgeschüttelte Lösung der Seifen wurde heiß mit Salzsäure angesäuert, nach dem Erkalten die abgeschiedenen Fettsäuren auf einem Filter gesammelt, in warmer verdünnter Natronlauge gelöst und nochmals durch Salzsäure abgeschieden.“ Die Fettsäuren zeigten die für sie charakteristischen Reaktionen; eine kleine Probe wurde in ver-

---

[1]) Salkowski, Kleinere Mitteilungen physiologisch-chemischen Inhaltes. II; die Reaktion von Cholesterin mit Schwefelsäure. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 6, 207, 1872.

[2]) Liebermann, Über das Oxychinoterpen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 18, 1804, 1885.

[3]) Burchard, Beiträge z. Kenntnis d. Cholesterins. Ing.-Diss. Rostock 1889, S. 6.

dünntem Ammoniak gelöst und der Überschuß von Ammoniak auf dem Wasserbade vertrieben. Bei Zusatz von Chlorkalcium, Chlorbarium und Magnesiumsulfat traten Niederschläge auf.

Eine kleine Probe der Fettsäuren wurde ferner in Chloroform gelöst und mit einer verdünnten Lösung von Brom in Chloroform versetzt. Dabei verschwand die durch das Brom bedingte Gelbfärbung: es müssen also unter den Fettsäuren sich ungesättigte Säuren befinden.

Nunmehr wurden die Fettsäuren systematisch nach den Vorschriften der Chemie der qualitativen Analyse unterzogen.[1])

Zur Isolierung etwa vorhandener niederer Fettsäuren wurde die Hauptmenge der Flüssigkeit, in der die Fettsäuren durch verdünnte Salzsäure ausgefällt waren, abdestilliert. Das Destillat wurde nach Übersättigung mit kohlensaurem Natron auf ein kleines Volumen eingeengt und nach erneutem Zusatz von verdünnter Salzsäure abermals abdestilliert. Das Destillat wurde mit reinem Chlorkalium gesättigt. Dabei trat keine Bildung von Öltropfen auf, so daß man also folgern kann, niedere Fettsäuren von der Propionsäure aufwärts sind im Destillat nicht enthalten. Darauf wurde auf Ameisen- und Essigsäure untersucht, indem die chlorkaliumhaltige Lösung von neuem der Destillation unterworfen und das wässerige Destillat mit Ammoniak gesättigt wurde. Eine kleine Probe wurde mit Silbernitrat gekocht, wobei kein Silberspiegel entstand, die Hauptmenge durch Kochen gehörig eingeengt und dann mit Silbernitrat versetzt. Es entstand kein Niederschlag. Der negative Ausfall beider Reaktionen beweist die Abwesenheit auch von Ameisen- und Essigsäure.

Der Rückstand im Destillierkolben wurde nach dem Erkalten mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung abfiltriert und mit Natronlauge längere Zeit geschüttelt, der Äther abgegossen und die Lauge zur völligen Entfernung des Äthers auf dem Wasserbade erwärmt. Nun wurde in die Lauge Kohlensäure eingeleitet bis zur Sättigung des freien Alkalis, zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit heißem Alkohol extrahiert und filtriert. Das Filtrat wurde mit essigsaurem Blei gefällt, das Ganze zur Trockne eingedampft und

[1]) Vgl. Hoppe-Seylers Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Analyse 1903, S. 61 ff.

der Rückstand mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung, welche das ev. vorhandene ölsaure Blei enthalten mußte, wurde abfiltriert und in einem vorher mit Kohlensäure gefüllten Gefäße mit verdünnter Salzsäure geschüttelt. Dann wurde die ätherische Lösung abgegossen und der Äther aus einem mit Kohlensäure gefüllten Gefäße abdestilliert. Es blieb im Destilliergefäße ein ziemlich großer Tropfen gelblichen Öles zurück. Dieses mußte nach der Darstellungsweise Ölsäure sein.

Der im Äther unlösliche Rückstand des Bleisalzes wurde in heißem Alkohol fein verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und danach heiß filtriert. Das Filtrat wurde mit Soda zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure übersättigt. Es entstand dabei eine deutliche Trübung durch das Ausfallen höherer gesättigter Fettsäuren, die wohl als Palmitin- und Stearinsäure anzusehen sind. Die Menge war leider so gering, daß eine weitere Untersuchung derselben, die Bestimmung des Schmelzpunktes oder gar eine Trennung unterbleiben mußte.

Das Ergebnis der Untersuchungen läßt sich folgendermaßen zusammenfassen. Aus xanthomatösen Geweben läßt sich ein Körper isolieren, der nach seinen optischen, physikalischen und färberischen Eigenschaften mit der in xanthomatösen Geweben enthaltenen doppeltbrechenden Substanz identisch ist. Dieser Körper ist ein Ester. Der Alkoholanteil desselben wird allein durch Cholesterin vertreten, der Säureanteil besteht aus einem Gemische von Fettsäuren, dessen Hauptvertreter die Ölsäure resp. die Elaidinsäure ist. Daneben finden sich in geringerer Menge höhere gesättigte Fettsäuren, wahrscheinlich Palmitin- und Stearinsäure.

Ob die Ölsäure als solche oder als ihr Polymeres, die Elaidinsäure, im Xanthom enthalten ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen, jedoch macht die hohe Lage des Schmelzpunktes bei der nur geringen Menge von Stearin- und Palmitinsäure letzteres wahrscheinlich.

Das Vorkommen von Cholesterinfett im menschlichen und tierischen Organismus ist schon lange bekannt. Die ältesten Untersuchungen über das Cholesterinfett beziehen sich auf sein Vorkommen im Wallrat und im Bienenwachs. Die älteren Autoren isolierten nicht das Cholesterinfett aus der Substanz und identifi-

zierten es als solches, sondern begnügten sich mit dem Nachweise, daß sich in den isolierten fettähnlichen Substanzen nach der Verseifung Cholesterin und Fettsäuren fanden. So fanden Hartmann[1]) und E. Schulze[2]) Cholesterinfett im Wollfett der Schafe, Ruppel[3]) in der Vernix caseosa, Liebreich[4]) in allen Epidermisbildungen.

Aus den Geweben rein dargestellt hat das Cholesterinfett, wenn man von der Arbeit Boudets[5]), der in dem von ihm aus dem Blut isolierten „Serolin" wahrscheinlich ein unreines Cholesterylstearat vor sich hatte, und der Darstellung von Cholesterinfetten aus der Hirnsubstanz durch Baumstark[6]), die sich bei der Nachprüfung durch Bünz[7]) nicht bestätigt hat, absieht, zuerst Hürthle[8]), und zwar aus dem Blute normaler Tiere. Er isolierte die Ester der Öl- und Palmitinsäure, beschrieb ihre Reaktionen und Schmelzpunkte, den Stearinsäureester des Cholesterins konnte er im Blute nicht nachweisen.

Der Prozentgehalt des Blutes an den beiden Estern beträgt etwa 0,1 %. Doch gibt Hürthle an, daß die Zahl wahrscheinlich zu niedrig gefunden ist. Auch bei pathologischen Prozessen wurden Cholesterinfettsäureester aus Organen usw. isoliert. Salkowski[9]) isolierte aus Haut bei Dermatitis expoliativa reinen Cholesterinpalmitinsäureester, Klemperer und Umber[10]) wiesen

---

[1]) Hartmann, Über den Fettschweiß der Schafwolle in chemischer und technischer Beziehung. Ing.-Diss. Göttingen 1868. Zitiert nach Ruppel.

[2]) E. Schulze, Über die Zusammensetzung des Wollfettes. Journ. f. prakt. Chem. N. F. 7, 163, 1873. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 5, 1075, 1872 und 6, 251, 1873.

[3]) Ruppel, Über die Vernix caseosa. Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 122, 1895/96.

[4]) Liebreich, Über das Vorkommen des Lanolins im menschl. Organismus. Virchows Archiv 121, 383, 1890.

[5]) Boudet, Annal. de Chimie et de Physique [2] 52, 337, 1833.

[6]) F. Baumstark, Über eine neue Methode, das Gehirn chemisch zu erforschen, und deren bisherigen Ergebnisse. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 145 ff., 1885.

[7]) R. Bünz, Über das Vorkommen von Cholesterinestern im Gehirn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 47 ff., 1905.

[8]) Hürthle, Über die Fettsäure-Cholesterinester des Blutserums. Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 331, 1895/96.

[9]) Salkowski, Über das Vorkommen und den Nachweis von Cholesterinestern. Arbeiten aus dem pathologischen Institut Berlin 1906, 573.

[10]) l. c.

im Diabetikerblut große Mengen Cholesterinfettsäureester nach; die Untersuchungen von Panzer (l. c.), der Cholesterinfett aus nephritischen Nieren, Dünndarmmesenterien und staphylomykotischem Graunlationsgewebe darstellte, sind schon erwähnt.

Auch synthetisch dargestellt sind die Ester. Als erster hat wohl Berthelot[1]) das Cholesterylstearat dargestellt, Hürthle (l. c.) hat die Ester der Ölsäure, Palmitin- und Stearinsäure dargestellt, und als Schmelzpunkt 42°, 78° resp. 82° C gefunden. Salkowski (l. c.) hat das Palmitat nach der etwas modifizierten Hürthleschen Methode dargestellt. Nach dieser hat auch Pribram[2]) die Ester dargestellt. Panzer[3]) hat den Cholesterinelaidinsäureester dargestellt und seinen Schmelzpunkt (47°) bestimmt. Auch die niederen Fettsäureester sind von Jäger[4]) dargestellt und beschrieben worden, und zwar das Acetat, Propionat, Heptylat, Nonylat, Laurat und das Myristat. Alle diese künstlich hergestellten Präparate zeigen die Erscheinung der Bildung doppeltbrechender flüssiger Krystalle, wie sie im Xanthom selbst enthalten sind.

Es ist nun noch eine kardinale Frage zu erledigen: Sind die isolierten Cholesterinfettsäureester wirklich identisch mit der Substanz im Xanthom, die wir suchen, und die uns mikroskopisch als die geschilderten doppeltbrechenden Tropfen und Krystalle imponiert? Oder sind etwa mit dem angewendeten Extraktionsverfahren einfach die Cholesterinfette, die das Xanthomgewebe gelöst oder in flüssigem Zustande enthält, extrahiert und die gesuchte Substanz entweder zerstört oder irgendwie verloren gegangen? Die Übereinstimmung der Sub-

---

[1]) Berthelot, Annal. de Chimie et de Physique [3] 56, 57, 1859.

[2]) Pribram, Beiträge zur Kenntnis des Schicksals des Cholesterins und der Cholesterinester im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. 1, 413, 1906.

[3]) Panzer, Über das sogenannte Protagon der Niere. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 519, 1906.

[4]) F. M. Jäger, Über die Ester der Fettsäuren mit Cholesterin und Phytosterin und über die flüssigen anisotropen Phasen der Cholesterinderivate. Rec. de Trav. chim. des Pays-Bas et de la Belg. 1906, 334; Kon. Akad. v. Wetenschr., Wis. en Nat. Afd. 15, 2. — Über Substanzen, welche mehrere Flüssigkeitsphasen besitzen, und über die bei anisotropen Substanzen beobachteten Erscheinungen. Kon. Akad. v. Wetenschr., Wis. en Nat. Afd. 15, 389 bis 401.

stanz in mikrochemischer, mikrophysikalischer und optischer Hinsicht kann bei der großen Ähnlichkeit der verschiedensten Körper, die diesem Gebiete der Chemie angehören, kaum als ein zwingender Beweispunkt herangezogen werden. Dagegen sind die angeführten Zweifel durch folgende Überlegung unbedingt zu beseitigen. Die reinen Xanthomzellen, wie ich sie in dem xanthomatösen Belag der Dura mater untersucht habe, bestehen — wie schon oben erwähnt — zu 64,1 % aus Cholesterinfettsäureestern. Nun gibt diese Zahl nur einen annähernden Wert an und kann einen Fehler von 10 % und noch mehr aufweisen. Selbst wenn wir aber annehmen, daß das Xanthomgewebe etwa nur zur Hälfte aus Cholesterinfettsäureestern besteht, so ist, wenn man noch die üblichen Prozente für Eiweiß und Wasser in Rechnung setzt, gar kein Platz übrig für irgendeine andere Substanz, die dann den gesuchten doppeltbrechenden Körper vorstellen sollte. Und dieser ist, wie die histologische Untersuchung ergibt, in den Xanthomelementen in den bedeutendsten Mengen vorhanden, ja bedingt durch seine Anhäufung wesentlich das ganze makroskopische und klinische Verhalten der Affektion. Also bleibt nur die Annahme, daß die isolierten Cholesterinfettsäureester durchaus identisch mit den doppeltbrechenden Tropfen sind, und diese können keineswegs aus etwas anderem, z. B. aus reinem Neutralfett mit einer Seifenmembran oder aus reinem Protagon oder aus irgendeinem anderen, sei es N- und P-freien, sei es N- und P-haltigen Körper bestehen.

Anders steht es mit der Frage, ob der aus Cholesterinsäureestern bestehenden Xanthomsubstanz nicht noch andere Körper, z. B. Neutralfett (Adami und Aschoff, l. c.) oder N- und P-haltiges Protagon beigemengt ist. Beim Ikterus und beim Diabetes ist oft gleichzeitig mit dem Cholesterin auch das andere Blutfett vermehrt. Wo aber Cholesterin in bestimmte Zellen aus dem Blut herausfiltriert wird, so könnte dies auch ebenso für die andern Substanzen zutreffen, die sich ebenfalls in vermehrter Menge im Blute vorfinden. Eine größere Menge von Fett oder Protagon könnte es aus dem oben angeführten Grunde unmöglich sein, dagegen muß man ohne weiteres zugeben, daß kleine Beimengungen von Neutralfett oder von Protagon recht wohl denkbar sind. Entsprechende Untersuchungen,

besonders die Beimengung von Protagon betreffend, konnten bei der beschränkten Menge des Ausgangsmaterials nicht gemacht werden.

Die nunmehr völlig sichere Feststellung der Tatsache, daß die im Xanthom enthaltene doppeltbrechende Substanz ganz oder zum überwiegendsten Teile ein Cholesterinfettsäureester oder vielmehr ein Gemenge verschiedener Cholesterinfettsäureester ist, ist nach zweierlei Richtung hin von Interesse. Erstens stellt sie eine Fortsetzung und Ergänzung der Panzerschen Arbeiten über die chemische Natur der doppeltbrechenden fettähnlichen Substanzen in pathologisch veränderten Organen vor: Unter dem von Panzer verarbeiteten Material befand sich kein Xanthom, und es ist dies auch natürlich, da Xanthome von der Größe oder Ausbreitung, daß sie zur chemischen Verarbeitung geeignet sind, sich nur sehr selten finden dürften.

Neben dieser allgemeinen Bedeutung kommt aber der Erkenntnis der chemischen Natur der doppeltbrechenden Substanz des Xanthoms noch eine ganz spezielle zu: Die eingangs erwähnte Anschauung von L. Pick und F. Pinkus über den Zusammenhang der Xanthombildung mit gewissen Veränderungen des Allgemeinstoffwechsels, bei Ikterus und Diabetes, ist zur sicheren Tatsache erhoben. Wir wissen sicher, daß beim Ikterischen sowohl wie beim Diabetiker das Blut einen erhöhten Gehalt an Cholesterinfettsäureestern, unter Umständen eine ganz enorme Cholesterinämie, zeigt, wir wissen ferner durch die oben geschilderten histologischen Untersuchungen sicher, daß sich in den bei Ikterus und Diabetes gelegentlich auftretenden xanthomatösen Hauteruptionen eine große Menge einer mikroskopisch wohl zu charakterisierenden Substanz findet. Hat nunmehr die dirote chemische Untersuchung der Substanz in den Xanthomzellen diese als einen Cholesterinfettsäureester erwiesen, so kann mit aller Bestimmtheit der Schluß gezogen werden, daß, wenn in solchen Fällen Xanthome entstehen, diese durch Ablagerung der im Blute kreisenden Cholesterinfettsäureester gebildet werden.

Im Anschluß an diese Untersuchungen habe ich auch noch zwei große weiße Nieren aus dem Sektionsmaterial des Krankenhauses im Friedrichshain, in denen von L. Pick makro- und

mikroskopisch reichlich doppeltbrechende Substanz festgestellt war, nach derselben Methode chemisch untersucht. Die Resultate, die völlig mit denen Panzers übereinstimmen, teile ich im folgenden mit.

1. Niere einer 33jährigen Frau (Sektionsprotokoll 1257, Jahrgang 1907), die an Lungentuberkulose gestorben war. Die Nieren zeigten parenchymatöse und interstitielle Nephritis und Amyloiddegeneration. Es wurde die eine ganze Niere, die in Formalin konserviert war, verarbeitet.

Gewicht der Niere: 94 g

Krystalle A	= 0,020 g
Krystalle B	= 0,244 g
	= 0,269 g
In den Mutterlaugen (209 ccm)	= 0,39 g
Summe	0,659 g

entsprechend 0,69 %.

Die Krystalle A schmolzen nach mehrfachem Umkrystallisieren scharf bei 54° C. Die Krystalle B auch nach wiederholter Reinigung unscharf zwischen 46° und 50° C. Krystalle A und B waren N- und P-frei. Die Krystalle A wurden verseift. Der unverseifbare Rückstand war größtenteils eine hellgelbliche dicke Flüssigkeit, in der sich farblose Krystalle in geringer Menge befanden; diese krystallisierten aus heißem Alkohol in den für Cholesterin typischen Formen aus.

Die Fettsäuren wurden in die Bleisalze verwandelt, in der üblichen Weise durch Äther in zwei Portionen getrennt und aus diesen wieder die freien Säuren hergestellt. Die Säure des ätherlöslichen Bleisalzes schmolz bei 38° und addierte Brom, die Säure des ätherunlöslichen Bleisalzes schmolz bei 50° und addierte kein Brom.

2. Niere eines 14jährigen Mädchens (Sektionsprotokoll 1013, Jahrgang 1908), das an Urämie gestorben war. Die Nieren zeigten chronische interstitielle Entzündung, Amyloid der Glomeruli und minimale Mengen Fett. Es wurde eine Niere, von der etwa 10 g zur mikroskopischen Untersuchung entfernt waren, frisch verarbeitet.

Gewicht der Niere: 103 g

Krystalle A	= 0,031 g
Krystalle B	= 0,427 g
	= 0,458 g
In den Mutterlaugen (253 ccm)	= 0,48 g
Summe	0,938 g

entsprechend 0,87 %.

Die Krystalle A schmolzen scharf bei 52°, die Krystalle B unscharf bei 49 bis 52°; beide waren N- und P-frei. Das Resultat der Verseifung war dasselbe wie bei der ersten Niere. Der Schmelzpunkt der Säure des ätherlöslichen Bleisalzes betrug 30° C. Die Säure des ätherunlöslichen Bleisalzes ging vor der Untersuchung verloren.

Wenn wir nun bei diesen Resultaten, die, wie schon erwähnt, völlig den Panzerschen entsprechen, dieselbe Frage aufwerfen, wie oben bei dem Xanthom, nämlich ob die isolierte Substanz wirklich die gesuchte doppeltbrechende Substanz, und nicht etwa gewöhnliches, im histologischen Bilde nicht als Krystalle in Erscheinung tretendes Cholesterinfett ist, wie es im Blute, in allen Keratinbildungen und vielleicht auch in anderen Organen vorkommt, so können wir hier die Frage nicht strikt verneinen. Denn die Menge der aufgefundenen Substanz — 0,66 % resp. 0,87 % — ist viel zu klein, das Mißverhältnis zwischen der chemisch gefundenen und der im mikroskopischen Bilde in Erscheinung tretenden Menge zu bedeutend, um den bei der Untersuchung des Xanthoms angeführten Grund auch hier geltend zu machen. Auf der andern Seite besteht die Möglichkeit, ja, vielleicht sogar eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß das von Panzer und von mir angewendete Extraktionsverfahren für das N- und P-haltige Protagon nicht suffizient ist. Mit der alten Methode von Thierfelder kam Panzer (l. c.) bei der doppeltbrechenden Substanz der Nieren nicht zum Ziel, so daß also gewöhnliches Protagon in diesen Nieren in der Tat nicht vorhanden zu sein scheint. Ob aber die doppeltbrechende Substanz in den Nieren nicht irgendein anderer, sei es ein N- und P-freier, sei es ein N- und P-haltiger protagonähnlicher Körper ist, bleibt noch immer unentschieden.

Eine Klärung der Frage, ob bei der fettähnlichen doppeltbrechenden Substanz der Niere ein N- und P-haltiger Körper beteiligt ist oder nicht, wäre um so erwünschter, als Stoerk[1]) daran denkt, die differente Natur der fettähnlichen doppeltbrechenden Substanz in Niere und Nebennierenadenomen — N- und P-frei in ersteren, N- und P-haltig in letzteren — in einer bestimmten genetisch-diagnostischen Richtung zu verwerten. Stoerk will nämlich das eventuelle Fehlen des Stickstoffs und des Phosphors in der doppeltbrechenden Substanz der Grawitzschen Nierentumoren mit als Argument benutzten für seine Auffassung, als entstünden die Grawitzschen Nierengeschwülste entgegen der bisherigen Anschauung nicht aus verlagertem Nebennierengewebe, sondern aus Nierengewebe. Zu sicheren Entscheidung dieser chemischen Frage ist daher ganz besonders eine Methode vonnöten, die den vorstehenden Einwendungen gerecht wird.

---

[1]) O. Stoerk, Zur Histogenese der Grawitzschen Nierengeschwülste. Zieglers Beiträge zur patholog. Anatomie und zur allgem. Pathologie 43, 436, 1908.

Über die Bangsche Methode der Zuckerbestimmung und ihre Verwendung zur Harnzuckerbestimmung.

Von

A. C. Andersen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium und dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(*Eingegangen am 14. November 1908.*)

In dieser Zeitschrift[1]) veröffentlichte im Jahre 1906 J. Bang eine neue Methode zur Bestimmung der Glucose. Nachdem H. Jessen-Hansen[2]) einige Mitteilungen über die Methode, und namentlich über die Darstellung der Titerflüssigkeiten Bangs gegeben hatte, habe ich es versucht, die Methode zur Bestimmung des Harnzuckers zu verwenden, und das Resultat war so gut, daß ich es einer Mitteilung wert halte.

Während ich mich mit diesen Untersuchungen beschäftigte, veröffentlichte Kasimir Funk[3]) eine Abhandlung, in welcher die Bangsche Methode als weniger empfehlenswert besprochen wird, weil sie im Harn zu hohe Werte des Zuckergehalts gebe; dagegen solle eine Methode von Bertrand[4]) Werte geben, die fast genau mit den polarimetrisch bestimmten übereinstimmten. Nach der Methode Bertrands wird der zu untersuchende Harn mit einem Überschuß an Fehlingscher Lösung drei Minuten lang gekocht, worauf das gebildete Kupferoxydul abfiltriert, mit Wasser völlig rein gewaschen und dann in einer Lösung von Ferrisulfat in verdünnter Schwefelsäure gelöst

[1]) Diese Zeitschr. 2, 271, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. 10, 249, 1908.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 507, 1908.

[4]) Bull. de la Soc. chim. de Paris 35, 1285, 1906.

wird; die Verbindungen setzen sich hierbei nach folgender Formel um:

$$Cu_2O + Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2CuSO_4 + 2FeSO_4 + H_2O.$$

Das gebildete Ferrosulfat wird mittels Kaliumpermanganat titrimetrisch bestimmt, und aus Tabellen, die Bertrand ausgearbeitet hat, läßt sich dann der Zuckergehalt berechnen. Daß die Bangsche Methode bei der Analyse zuckerhaltiger Harne höhere Werte gibt als die Bertrandsche, solle seine Erklärung darin finden, daß die Bangsche Methode die Gesamtreduktion des Harns bestimme, während bei der Bertrandschen Methode die im Harne befindlichen reduzierenden Substanzen (Kreatinin, Harnsäure usw.) zwar die Fehlingsche Lösung reduzierten, ohne jedoch das dadurch entstandene Kupferoxydul abzuscheiden, so daß es für das Endresultat nicht in Betracht komme. Nach Bertrand bestimmt, sollte ein normaler Harn eine Reduktion von etwa 0,1 %, auf Glucose berechnet, geben, während er nach Bang titriert 0,2 bis 0,4 %, ja in Fieberharnen sogar 0,6 bis 0,8 % zeigen sollte, ohne daß diese Zucker enthielten.

Es ist nun nicht leicht einzusehen, weshalb die Bertrandsche Methode besser sein sollte als die früher bekannten, denn hat man die Zuckerlösung mit Fehlingscher Lösung gekocht und das gebildete Kupferoxydul abfiltriert und rein gewaschen, dann kann man es doch ebensogut gravimetrisch, z. B. nach Kjeldahl[1]), wie titrimetrisch nach Bertrand bestimmen. Letztere Methode scheint mir sogar weniger empfehlenswert, weil das Ferrosulfat sich bekanntlich sehr leicht wieder oxydiert, so daß ein Teil desselben sich der Titrierung entziehen kann, wonach man zu wenig Zucker finden wird; sollte man vor einer solchen Oxydation sicher sein, so müßte man das Kupferoxydul abfiltrieren, mit ausgekochtem Wasser rein waschen, wieder lösen und titrieren — alles ohne Zutritt der Luft. Hierdurch wird aber die Methode viel komplizierter und schwieriger zu benutzen als die gravimetrische, und ich habe daher immer, wenn es galt, den Zuckergehalt einer Lösung genau festzustellen, die gravimetrische Methode Kjeldahls benutzt.

---

[1]) Compt. rend. des trav. du lab. de Carlsberg, 4, 1, 1895; Zeitschr. f. anal. Chem. 35, 344, 1896.

Herstellung der Bangschen Lösungen.

Die Kupferlösung wurde nach Bangs Vorschrift[1]) unter Beobachtung der von Jessen-Hansen[2]) gegebenen Vorsichtsmaßregeln hergestellt. Um ganz sicher zu gehen, daß die richtige Menge Kupfersulfat zur Verwendung kam, stellte ich eine Lösung aus reinem krystallisiertem Kupfersulfat her, und bestimmte den Gehalt an Kupfer durch Elektrolyse. Zur Herstellung von 2 l Bangscher Kupferlösung maß ich dann so viel von der reinen Kupfersulfatlösung ab, daß sich darin 25 g $CuSO_4 + 5H_2O$ befanden und diese Menge versetzte ich mit so viel Wasser, daß 150 ccm Wasser vorhanden waren, d. h. bis das Gesamtgewicht der Lösung 175 g betrug; diese Lösung wurde dann langsam und unter Umschütteln in die Lösung der anderen Salze gegossen, das Ganze bis auf 2 l gebracht, bis zum nächsten Tage hingestellt und dann filtriert. Auf diese Weise wurden im ganzen 5×2 l Kupferlösung hergestellt und ihr Wirkungswert durch Titrieren mit einer Hydroxylaminlösung bestimmt (siehe S. 79).

Die Hydroxylaminlösung. Das hierzu verwendete Hydroxylaminsulfat war feinster Ware von C. A. F. Kahlbaum, Berlin.

2,7825 g Substanz wurden im Vakuum über Schwefelsäure bis auf konstantes Gewicht getrocknet, wodurch 0,1055 g Wasser schwanden $= 3{,}79\,^0/_0$.

0,7021 g der nicht getrockneten Substanz wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis auf 100 ccm verdünnt. Der Gehalt dieser Lösung an Hydroxylamin wurde durch Kochen mit Fehlingscher Lösung[3]) bestimmt, indem 50 ccm Fehlingscher Lösung von normaler Zusammensetzung während Durchleitens von Wasserstoff 10 Minuten in kochendem Wasser erwärmt und darauf ohne Unterbrechen des Wasserstoffstromes mit 40 ccm der Hydroxylaminsulfatlösung versetzt wurden; nach weiterer 20 Minuten langer Erwärmung wurde das gebildete Kupferoxydul abfiltriert, mit heißem Wasser rein gewaschen, dann einmal mit Alkohol und Äther gewaschen, getrocknet, durch Glühen im Wasserstoffstrome reduziert und als metallisches Kupfer gewogen. Es wurden zwei Analysen mit je 40 ccm der Hydroxylaminsulfatlösung ausgeführt und das Kupfer wie eben erwähnt bestimmt, wodurch 0,4038 g bzw. 0,4055 g metallisches Kupfer gefunden wurden, Da 40 ccm der Lösung 0,2808 g Substanz enthielten und da Hydroxylamin die Fehlingsche Lösung nach folgender Gleichung reduziert:

$$4CuO + 2NH_2OH = 2Cu_2O + N_2O + 3H_2O,$$

so erhellt hieraus, daß das Präparat 92,8 bzw. $93{,}2\,^0/_0$ reines Hydroxylaminsulfat enthält.

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 279, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. 10, 249, 1908.

[3]) Jul. Donath, Verhalten des Hydroxylamins gegen alkalische Kupferlösungen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 10, 766, 1877. — W. Meyeringh, Über einige maßanalytische Methoden zur Bestimmung des Hydroxylamins. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 10, 1940, 1877.

Es wurden jetzt 2 × 2 l Hydroxylaminlösung nach Bangs Vorschrift[1]) hergestellt, nur wurde statt der von Bang vorgeschriebenen 6,55 g Hydroxylaminsulfat die entsprechende Menge $(6{,}55 \times \frac{100}{93} = 7{,}04\ g)$ des oben erwähnten Präparats verwendet. Aus einem anderen Präparat, das 97,8 % reines Hydroxylaminsulfat enthält, wurden noch 2 l Lösung hergestellt, und die drei Lösungen wurden mittels einer Kupferlösung verglichen.

Vergleichung der Lösungen. In seiner öfters zitierten Abhandlung gibt Bang an, daß die zwei Lösungen sich gleich sind, so daß 50 ccm Kupferlösung durch 50 ccm Hydroxylaminlösung entfärbt werden, wenn die Lösungen richtig hergestellt sind. Es ist aber nirgends zu ersehen, in welcher Weise die Titrierung ausgeführt werden soll, ja in der vor kurzem erschienenen kleinen Tafel[2]) wird überhaupt nicht besprochen, daß die Lösungen miteinander übereinstimmen. Herr Professor Bang hat mir indessen gütigst mitgeteilt, daß er die erwähnte Titrierung — auf welche sich die ganze Zuckertabelle gründet — ohne Verdünnung oder Kochen der Kupferlösung ausgeführt hat, und dieser Kontrolle muß daher auch jeder Forscher seine Lösungen vor der Benutzung unterwerfen.

Die drei oben erwähnten Hydroxylaminlösungen wurden nun durch Titrieren miteinander verglichen, indem zu jeder Titrierung 50 ccm derselben Kupferlösung verwendet wurden; zur Entfärbung der Kupferlösung wurden verbraucht:

von Hydroxylaminlösung Nr. 1	50,2	bzw.	50,5 ccm,
„ „ „ 2	50,0	„	50,2 „
„ „ „ 3	49,7	„	50,0 „

Die drei Lösungen sind somit gleichwertig, weshalb sie vereinigt wurden, und mit der auf diese Weise hergestellten Lösung sind sämtliche folgende Titrierungen ausgeführt worden; die Lösung wurde der Haltbarkeit wegen im Dunkeln aufbewahrt.

Wie schon oben erwähnt, stellte ich im ganzen 5 × 2 l Kupferlösung her, deren Wirkungswert ich durch Titrieren mit der gemischten Hydroxylaminlösung (siehe oben) untersuchte; mit jeder Kupferlösung wurden zwei Versuche gemacht, und zu jedem Versuch wurden 50 ccm Kupferlösung benutzt. Zur Entfärbung wurden von Hydroxylaminlösung verwendet:

für Kupferlösung Nr. 1	50,0	bzw.	50,2 ccm,
„ „ „ 2	49,4	„	49,6 „
„ „ „ 3	49,9	„	49,8 „
„ „ „ 4	50,3	„	50,0 „
„ „ „ 5	49,9	„	49,7 „

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 280. 1906.

[2]) Methode der Zuckerbestimmung von J. Bang. Verlag von Jul. Springer, Berlin 1908.

Um die Bedeutung der hier gefundenen Abweichungen beurteilen zu können, muß man folgendes beachten: Wird eine Zuckerlösung mit 0,5 % Glucose analysiert — die also in 10 ccm, welche titriert werden, 50 mg Glucose enthält — so bedeutet ein Fehler von 1 ccm hinsichtlich einer der Titerflüssigkeiten, daß man statt 50 mg Glukose 48 oder 52 mg findet, d. h. die Zuckerlösung scheint 0,48 oder 0,52 % statt 0,50 % Glukose zu enthalten. Analysiert man dagegen eine Zuckerlösung mit nur 0,05 % Glukose — die also in 10 ccm 5 mg Glucose enthält — so bewirkt derselbe Fehler, daß man statt 5 mg 4 oder 6 mg findet, und die Zuckerlösung scheint demnach 0,04 oder 0,06 % statt 0,05 % Glucose zu enthalten. Solche Abweichungen sind indessen bei gewöhnlichen Analysen und namentlich bei Harnanalysen ganz ohne Bedeutung.

Aus den oben erwähnten Versuchen erhellt, daß man, wenn man die gegebenen Vorschriften streng beobachtet, leicht Kupferlösungen herstellen kann, die jedesmal die gleichen sind; bei der Darstellung der Hydroxylaminlösungen muß man dagegen beachten, daß selbst die feinsten Handelspräparate nicht immer rein sind, denn dieser Umstand kann recht erhebliche Fehler herbeiführen. Vergleicht man die oben erwähnten Versuche mit der Angabe Bangs, daß 50 ccm Kupferlösung 50 ccm Hydroxylaminlösung gleich sind, so muß man hieraus den Schluß ziehen, daß das von Bang verwendete Hydroxylaminsulfat rein war. Es läßt sich nun nicht aus Bangs Abhandlung ersehen, ob er sein Präparat analysiert hat, bevor er es benutzte; er macht indessen nicht darauf aufmerksam, daß, wie schon oben gesagt, sogar die feinsten verhandelten Hydroxylaminsulfatpräparate nicht immer hinlänglich rein sind und daß daher stets eine Kontrolltitrierung der hergestellten Lösungen stattfinden muß; diese Titrierung muß selbstverständlich in derselben Weise wie bei den der Bangschen Zuckertabelle zugrunde liegenden Einstellungen ausgeführt werden (siehe oben).

Man braucht nun nicht sein Hydroxylaminsulfat zu analysieren, bevor man es benutzt; man kann die Lösung ohne weiteres nach Bangs Vorschrift herstellen und dann ihren Wirkungswert durch eine Einstellung bestimmen. Findet man hierbei z. B., daß 50 ccm Kupferlösung nicht durch 50 ccm, sondern erst durch 53,8 ccm der Hydroxylaminlösung entfärbt werden (und dies würde mit einer Lösung des oben erwähnten Präparats der Fall sein, wenn man nur 6,55 g — die erforderliche Menge reinen Salzes — verwendet), so braucht man die Lösung doch nicht zu kassieren. Man kann nämlich nach der Einstellung entweder etwas mehr Hydroxylaminsulfat zu der Lösung setzen, und zwar eine solche Menge, daß die Lösung richtig wird, oder man kann die Lösung benutzen, wie sie ist, und dann nach jeder Analyse die verbrauchte Menge Hydroxylaminlösung durch Berechnung korrigieren, ehe man die Zuckertabelle benutzt.

Bestimmung der Glucose in reinen wässerigen Lösungen.

1 g Glucose („Kahlbaum“) wurde in Wasser gelöst und die Lösung auf 200 ccm gebracht. In dieser Lösung wurde nun die Glucose nach Kjeldahls[1]) Methode bestimmt, indem zu jeder Analyse 20 ccm der Zuckerlösung und 30 ccm Fehlingsche Lösung verwendet wurden. Durch drei Analysen wurde gefunden, daß das von 20 ccm der Zuckerlösung reduzierte Kupferoxyd enthielt:

0,1950 g Kupfer, 98,3 mg Glucose entsprechend,
0,1957 g „ 98,7 mg „ „
0,1956 g „ 98,65 mg „ „

In 10 ccm der Zuckerlösung finden sich also im Mittel 49,3 mg Glucose.

In derselben Zuckerlösung wurde darauf der Zuckergehalt nach Bang bestimmt, indem zu jeder Analyse 10 ccm der Lösung verwendet wurden. Bei der Zurücktitrierung wurden dabei an Hydroxylaminlösung verbraucht:

6,6 ccm, 48,7 mg Glucose entsprechend,
6,1 ccm, 49,6 mg „ „
6,4 ccm, 49,1 mg „ „
6,3 ccm, 49,3 mg „ „

im Mittel 49,2 mg Glucose.

50 ccm der Zuckerlösung wurden mit Wasser bis auf 100 ccm verdünnt; 10 ccm dieser Lösung enthielten dann 24,65 mg Glucose. Die Lösung wurde wie oben nach Bang titriert, und der Verbrauch an Hydroxylaminlösung betrug dabei:

24,6 ccm, 24,5 mg Glucose entsprechend,
24,8 ccm, 24,3 mg „ „
24,9 ccm, 24,2 mg „ „
24,6 ccm, 24,5 mg „ „

im Mittel 24,4 mg Glucose.

Endlich wurden 10 ccm der Zuckerlösung mittels Wassers auf 100 ccm gebracht, so daß 10 ccm nur 4,93 mg Glucose enthielten, und in dieser Lösung wurde der Zucker auch nach Bang bestimmt. Es wurden an Hydroxylaminlösung verbraucht:

---

[1]) Compt. rend. des trav. du lab. de Carlsberg 4, 1, 1895 und Zeitschr. f. anal. Chem. 35, 344, 1896.

44,4 ccm, 4,6 mg Glucose entsprechend,
44,8 ccm, 4,3 mg „ „
44,5 ccm, 4,5 mg „ „

im Mittel 4,5 mg Glucose.

Aus diesen Versuchen sieht man, daß die Abweichungen, obwohl sie innerhalb der Bangschen Bestimmungen etwas größer sind als innerhalb der Kjeldahlschen, doch so klein sind, daß sie in der Praxis, wo man gewöhnlich den Zuckergehalt in Prozenten mit nur zwei Dezimalen ausdrückt, ganz bedeutungslos werden. Ferner ist die Übereinstimmung zwischen den Durchschnittszahlen der titrimetrischen und denen der gravimetrischen Bestimmungen eine so gute, daß die Bangsche Methode als zuverlässig bezeichnet werden muß, wenigstens wenn es Zuckerbestimmungen in reinen wässerigen Lösungen gilt.

Entfärbung des Harnes.

Wenn man Glucose nicht in reinen wässerigen Lösungen, sondern im Harn bestimmen will, hat man eine Schwierigkeit zu überwinden, indem — wie schon oben erwähnt — im Harn außer der Glucose noch andere Stoffe vorkommen, die die Fehlingsche Lösung reduzieren. Möglicherweise könnte man die Eigenreduktion des Harns — d. h. die Reduktion, welche zuckerfreier Harn durch Kochen mit Fehlingscher Lösung oder einer anderen ähnlichen Lösung verursacht — vermindern, wenn man den Harn mit einem geeigneten Fällungsmittel behandelte, und zu diesem Zwecke versuchte ich Bleiacetat oder Mercurinitrat zu verwenden.

Das neutrale Bleiacetat wird gewöhnlich zur Klärung zuckerhaltigen Harns oder anderer Zuckerlösungen benutzt, wenn man den Zucker polarimetrisch zu bestimmen wünscht; will man die Bestimmung dagegen mittels einer Reduktionsmethode ausführen, so benutzt man in der Regel kein Klärungsmittel. Wie schon oben gesagt, bediente ich mich des neutralen Bleiacetats, um die Eigenreduktion des Harns zu vermindern, und ich führte dabei die Fällung stets auf folgende Weise aus. 100 ccm Harn wurden mit 5 g feingepulvertem Bleiacetat 5 Minuten lang gut geschüttelt und auf einen trockenen Filter gebracht; um ein klares Filtrat zu bekommen, war es oft

— immer wenn das Filtrat Zucker enthielt — notwendig, die Lösung mehrmals durch denselben Filter zu filtrieren. Ein Teil des Filtrates wurde stets mit noch ein wenig mehr Bleiacetat versetzt, es löste sich aber, ohne eine Fällung zu geben, so daß die verwendete Menge (5 g) immer genügte, um eine möglichst vollständige Fällung zu geben. Das klare Filtrat wurde stets sowohl titrimetrisch nach Bang als auch polarimetrisch untersucht, ohne daß das Blei aus der Lösung entfernt wurde. Es wurde angenommen, daß der Harn durch diese Behandlung sein Volumen nicht änderte.

Auf diese Weise behandelt war der Harn noch deutlich gelb, doch nicht so stark, daß dadurch die polarimetrische Untersuchung gehindert wurde; nur in einem Falle, wo der Harn Blut enthielt, war es nötig, das Filtrat auf das Zweifache zu verdünnen, um die Untersuchung zu ermöglichen. War zuckerfreier Harn, wie oben erwähnt, mit Bleiacetat behandelt worden, so war das Filtrat, wie aus der später folgenden Tabelle 1 zu ersehen, immer linksdrehend.

Mercurinitrat ist von G. Patein[1]) zum Klärungsmittel bei der polarimetrischen Untersuchung des Harns vorgeschlagen worden, es scheint aber nur wenig bekannt zu sein. Im hiesigen Laboratorium ist das Verfahren schon vor mehreren Jahren vom Professor S. P. L. Sörensen eingeführt worden und hat öfters guten Erfolg gehabt. In Vorträgen auf den drei letzten Kongressen für angewandte Chemie wurde das Verfahren besprochen und empfohlen von G. Patein[2]) (Paris 1900), Denigès[3]) (Berlin 1903) und L. Porcher[4]) (Rom 1906), die sämtlich damit gearbeitet und gefunden haben, daß es der gewöhnlichen Fällung mit Bleiacetat weit vorzuziehen ist. Nach den Angaben Denigès's wird Glucose durch Mercurinitrat gar nicht gefällt, dagegen fällt dieses die Eiweißkörper, selbst Peptone, und Gallenfarbstoffe aber — wie Bleiacetat — weder β-Oxybuttersäure noch Homogentisinsäure.

---

[1]) Chem. Centralbl. 1, 69, 1900.

[2]) Compt. rend. du IVe Congrès international de chimie appliquée 2, 655.

[3]) Ber. des V. intern. Kongresses f. angew. Chem. 4, 130.

[4]) Atti del VI. Congresso internazionale di chimica applicata 5, 140.

Behufs der Fällung bereitet man auf folgende Weise eine Lösung von Mercurinitrat. In eine geräumige Schale aus Porzellan werden 160 ccm konz. Salpetersäure (spez. Gew. 1,39) gebracht, und darauf werden in kleinen Portionen 220 g rotes Quecksilberoxyd zugesetzt, wobei man stark umrühren muß, damit das Quecksilberoxyd nicht zusammenballt; wenn alles zugesetzt ist, wird das Umrühren noch einige Minuten fortgesetzt und dann das Ganze langsam bis zum Kochen erhitzt. Wenn alles gelöst ist, wird die Lösung abgekühlt und mit 60 ccm 5⁰/₀iger Natronlauge versetzt, um den großen Überschuß an Salpetersäure zu vermindern. Es wird nun Wasser zugesetzt, bis das Volumen 1 l beträgt; darauf wird die Lösung filtriert und in einer braunen Flasche aufbewahrt.

Mit dieser Lösung wird der Harn gefällt, indem 50 ccm Harn in einem 100 ccm fassenden Meßkolben mit 25 ccm der Mercurinitratlösung gemischt werden, wodurch eine reichliche Fällung entsteht; darauf wird Natronlauge zugesetzt, bis die Reaktion auf Lackmuspapier neutral — amphoter — geworden ist, und dann gibt man nach Umschütteln Wasser bis zur Marke hinzu. Das Ganze wird nun durch einen trockenen Filter filtriert; es filtriert immer leicht und ganz klar, und das Filtrat war in meinen Versuchen immer ganz farblos; wurde normaler Harn oder doch Harn ohne Zucker oder β-Oxybuttersäure verwendet, so war das Filtrat des Quecksilberniederschlags immer optisch neutral. Das Volumen wird durch diese Behandlung auf das Zweifache gebracht.

Durch die erwähnte Neutralisation mit Natronlauge wird fast alles Quecksilber ausgefällt, doch kann man in dem Filtrat mittels Stannoklorid noch ein wenig Quecksilber nachweisen. Für die polarimetrischen Untersuchungen ist dieses ohne Bedeutung; will man aber die Zuckerbestimmung nach einer der Reduktionsmethoden ausführen, so ist es notwendig, alles Quecksilber aus der Lösung zu entfernen. Man setzt dann ein paar Tropfen Salzsäure und ein paar Gramm Zinkstaub zu ca. 50 ccm der Lösung, schüttelt 5 bis 10 Minuten und filtriert durch einen trockenen Filter. Hat man 5 Minuten lang geschüttelt, so ist man in der Regel imstande, noch eine Spur von Quecksilber in der Lösung nachzuweisen; hat man dagegen die Mischung 10 Minuten lang geschüttelt, so ist alles aus-

gefällt. Zu erwähnen ist noch, daß die neutrale quecksilberhaltige Lösung nach ein paar Stunden nicht mehr völlig klar ist, während die quecksilberfreie Lösung tagelang unverändert aufbewahrt werden kann.

Bestimmung der Eigenreduktion des Harnes.

Um die Größe der Eigenreduktion zu untersuchen, wurden mit zuckerfreiem Harn einige Versuche ausgeführt, die in der Tabelle 1 zusammengestellt sind. Zu den Versuchen Nr. 1, 2 und 3 wurde normaler Harn verwendet, in Nr. 4 dagegen Harn eines Patienten mit hohem Fieber; zum Versuche Nr. 5 wurde derselbe Harn wie zu Nr. 3 verwendet, nur war er mit ca. $2^0/_0$ Glucose versetzt und einer Gärung unterworfen worden, bis aller Zucker verschwunden war (siehe unten). Der zu den übrigen Versuchen verwendete Harn rührte von Diabetikern her, auch hier war aber aller Zucker vergoren, indem zu ca. 100 ccm Harn etwa 1 g Preßhefe zugesetzt und in dem Harn völlig aufgeschlemmt worden war. Die Mischung blieb 2 Tage hindurch bei gewöhnlicher Temperatur stehen, worauf aller Zucker verschwunden war; damit keine Verdampfung stattfinden sollte, wurde die Mischung in eine Flasche gebracht und diese mittels eines Stöpsels verschlossen; der Stöpsel war durchbohrt und mit einem fein ausgezogenen Glasrohre versehen.

Die Reduktionsbestimmungen sind sämtlich nach Bangs Methode ausgeführt, teils mit dem Harn ohne Vorbehandlung (zu jeder Titrierung wurden 5 ccm Harn und 5 ccm Wasser verwendet), teils mit dem mittels Bleiacetat in der früher beschriebenen Weise (siehe S. 82) gereinigten Harn (auch hier wurden jedesmal 5 ccm Harn und 5 ccm Wasser verwendet) und teils mit dem durch das Quecksilberverfahren gereinigten Harn (siehe oben), wobei zu jeder Titrierung 10 ccm, 5 ccm Harn entsprechend, verwendet wurden. Die in der Tabelle angeführten Zahlen geben in Prozenten an, welcher Menge Glucose die im Harn befindlichen reduzierenden Stoffe entsprechen; es wurden stets Doppelbestimmungen ausgeführt, und aus der Durchschnittszahl wurden darauf die angegebenen Zahlen berechnet; über die Übereinstimmung solcher Doppelanalysen siehe S. 87 u. 88.

Die polarimetrischen Bestimmungen wurden mit denselben Harnproben auf gewöhnliche Weise ausgeführt; die angeführten Zahlen geben in Prozenten an, welcher Menge Glucose der numerische Wert der Drehungen entspricht. Die Lösungen waren hier sämtlich linksdrehend; die eingeklammerten höheren Zahlen sind durch β-Oxybuttersäure verursacht.

Tabelle 1.

Eigenreduktion des Harns.

		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12
Titrimetrisch nach Bang	Mit Harn ohne Reinigung . .	0,20	0,20	0,17	0,41	0,14	0,1	0,09	0,11	0,12	0,10	0,20
	Mit durch Bleiacetat gereinigtem Harn .	0,16	0,14	0,11	0,34	0,11	0,07	0,08	0,10	0,10	0,08	0,13
	Mit durch das Quecksilberverfahren gereinigtem Harn	0,08	0,07	0,05	0,22	0,05	0,04	0,05	0,08	0,08	0,06	0,08
Polarimetrisch	Mit durch Bleiacetat gereinigtem Harn .	0,17	0,04	0,08	0,26	0,07	(0,96)	(1,13)	(0,97)	(1,08)	(0,95)	0,05
	Mit durch das Quecksilberverfahren gereinigtem Harn	0	0	0	0,1	0	(0,48)	(0,59)	(0,66)	(0,57)	(0,57)	0

Es erhellt hieraus, daß die Größe der Eigenreduktion etwas variieren kann. Die Eigenreduktion ist für den Fieberharn am größten, wie auch zu erwarten war, weil dieser so konzentriert ist, und für die Diabetikerharne am geringsten, damit übereinstimmend, daß dieselben mehr verdünnt sind als der normale Harn. Außerdem geht hervor, daß die Eigenreduktion durch Behandeln des Harns mit Bleiacetat oder noch besser mit Mercurinitrat sich erheblich vermindern läßt; bei Anwendung von Mercurinitrat als Klärungsmittel wird sie so klein, daß sie ganz ohne Bedeutung wird. Aus den polarimetrischen Bestimmungen in den Harnen, welche keine β-Oxybuttersäure enthielten, sieht man, daß normaler, mit Bleiacetat geklärter Harn noch linksdrehend ist, wenn auch so wenig, daß es keine

Bedeutung haben kann. Hat man dagegen den Harn mit Mercurinitrat behandelt, so ist er optisch neutral.

Bestimmung der Glucose im Harn.

Hierzu wurden teils normale Harne, in welchen bekannte Mengen von Glucose gelöst worden waren (Tabelle 2, Nr. 1a, 1b und 5), und teils Diabetikerharne, die Herr Reservearzt Dr. med. V. Bie mir gütigst zur Verfügung gestellt hatte, verwendet; es sei mir gestattet, hier Herrn Dr. Bie meinen Dank abzustatten.

Die Resultate sind in der Tabelle 2 zusammengestellt. Die titrimetrischen Untersuchungen wurden ganz wie oben unternommen; um die Bangsche Methode auch hier zu kontrollieren, wurde die Glucose in dem mittels Mercurinitrat gereinigten Harn auch nach Kjeldahls Methode bestimmt; diese Bestimmungen sind in der vierten Reihe der Tabelle aufgeführt. Es sind ferner die durch polarimetrische Untersuchungen gefundenen Werte angegeben; in Nr. 6 bis 11, wo der Harn erhebliche Mengen β-Oxybuttersäure enthält (siehe S. 90), war es notwendig, um den Zuckergehalt zu finden, die Drehung sowohl direkt wie nach beendeter Gärung zu bestimmen; aus der Differenz wurde dann berechnet, wie viel Glucose der Harn enthalten hatte.

Vor und nach der Gärung wurde das spezifische Gewicht des Harns mittels der Westphalschen Wage bestimmt und aus der Differenz wie gewöhnlich nach Robert der Zuckergehalt berechnet; diese Bestimmungen sind in Reihe 7 der Tabelle 2 aufgeführt. In Reihe 8 sind einige Bestimmungen mittels Lohnsteins Saccharometer angegeben.

Zur Bestimmung des Zuckergehalts nach Bangs Methode wurden stets zwei Titrierungen ausgeführt. Um die Übereinstimmung solcher Doppeltitrierungen zu demonstrieren, folgt hier die ganze Analyse eines Diabetikerharns (Nr. 7 in der Tab. 2).

Der Harn war hellgelb, fast ganz klar und äußerst schwach sauer; das spezifiische Gewicht betrug bei 15° 1,019.

Titrierung nach Bang:

1. 10 ccm Harn wurden mit Wasser bis auf 50 ccm verdünnt, und von dieser Lösung wurden zu jeder Titrierung 10 ccm verwendet. Der Verbrauch an Hydroxylaminlösung betrug:
   16,0 ccm, 35,1 mgr Glucose entsprechend, d. h. 1,76 %
   16,4 ccm, 34,6 mgr „ „ „ 1,73 %

2. Etwa 50 ccm des Harns wurden mit Bleiacetat geklärt; 10 ccm des Filtrats wurden wie oben behandelt. Der Verbrauch betrug:
18,4 ccm, 32,1 mg Glucose entsprechend, d. h. 1,61 %
18,8 ccm, 31,6 mg „ „ „ 1,58 %

3. 50 ccm Harn wurden mit Mercurinitrat gefällt und 20 ccm (10 ccm Harn entsprechend) wie oben verdünnt und titriert. Der Verbrauch an Hydroxylaminlösung betrug:
19,6 ccm, 30,7 mg Glucose entsprechend, d. h. 1,54 %
19,3 ccm, 31,0 mg „ „ „ 1,55 %

In 10 ccm des mittels Mercurinitrat gereinigten Harns wurde nach Kjeldahl der Zuckergehalt bestimmt; es wurden 50 ccm Fehlingscher Lösung verwendet, und dadurch 0,1610 g Kupfer gewonnen. Diese Menge entspricht 73,9 mg Glucose, so daß der Harn also 1,48 % Glucose enthalten hat.

Polarimetrische Untersuchung. Nach Reinigung des Harns mittels Bleiacetat wurde in einem Rohr von 2 cm Länge eine Drehung von nur $+0,64^0$ gefunden, so daß der Harn nur 0,6 % Glucose enthalten sollte.

Nach Reinigung des Harns mittels Mercurinitrat wurde dagegen eine Drehung von $+0,57^0$ gefunden; hiernach sollte der Harn 1,08 % Glucose enthalten, indem man sich erinnern muß, daß der Harn hier auf das Zweifache verdünnt worden ist.

Etwa 100 ccm Harn wurden in der früher beschriebenen Weise einer Gärung unterworfen. Nach beendeter Gärung wurde die Hefe abfiltriert; in dem Filtrat betrug das spezifische Gewicht bei 15^0 1,013; der Harn enthielt also $(1019 \div 1013) \times 0,23 = 1,38$ % Glucose.

Die Titrierungen wurden ganz wie oben ausgeführt; es wurden die folgenden Zahlen gefunden:

1. Verbraucht 43,9 ccm Hydroxylaminlösung, 5,0 mg Glucose entspr., d. h. 0,1 %.
Verbraucht 44,4 ccm Hydroyxlaminlösung, 4,6 mg Glucose entspr., d. h. 0,09 %.

2. Verbraucht 46,3 ccm Hydroxylaminlösung, 3,1 mg Glucose entspr., d. h. 0,06 %.
Verbraucht 45,7 ccm Hydroxylaminlösung, 3,5 mg Glucose entspr., d. h. 0,07 %.

3. Verbraucht 47,8 ccm Hydroxylaminlösung, 1,8 mg Glucose entspr., d. h. 0,04 %.
Verbraucht 47,4 ccm Hydroxylaminlösung, 2,2 mg Glucose entspr., d. h. 0,04 %.

Polarimetrische Untersuchung. Nach Klärung mittels Bleiacetat wie früher wurde eine Drehung von $\div 0,98^0$ beobachtet. Die durch den Zucker verursachte Drehung ist also $0,64^0 + 0,98^0 = 1,62^0$, 1,54 % Glucose entsprechend.

Nach Klärung mittels Mercurinitrat wurde dagegen eine Drehung von $\div 0{,}25^\circ$ gefunden. Die von dem Zucker herrührende Drehung ist also $0{,}57^\circ + 0{,}250 = 0{,}82^\circ$, 1,56 % Glucose entsprechend.

In dieser Weise wurden alle Analysen ausgeführt; die Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

Glucose im Harn.

	No.	1a	1b	5	6	7	8	9	10	11	12
Titrimetrisch nach Bang	Mit Harn ohne Reinigung	—	0,46	2,20	3,13	1,75	1,73	2,74	2,54	1,94	1,83
	Mit durch Bleiacetat gereinigtem Harn	1,18	0,43	2,12	3,00	1,60	1,62	2,64	2,42	1,91	1,74
	Mit durch Mercurinitrat gereinigtem Harn	1,06	0,32	2,05	2,99	1,55	1,54	2,53	2,24	1,80	1,60
Nach Kjeldahl wurde in dem durch Mercurinitrat gereinigten Harn gefunden:		1,00	0,25	2,00	2,91	1,48	1,44	2,47	2,21	1,76	1,58
Polarimetrisch	Mit durch Bleiacetat geklärtem Harn	0,84	0,17	1,92	—	1,54	1,43	2,42	2,25	1,68	1,53
	Mit durch Mercurinitrat geklärtem Harn	0,91	0,23	1,96	—	1,56	1,39	2,47	2,15	1,71	1,58
Durch Gärung nach Robert		—	—	2,30	—	1,38	1,84	2,30	2,30	1,84	1,84
Durch Gärung im Saccharimeter Lohnsteins		—	—	—	1,6	—	1,6	2,8	2,4	1,8	—

Es erhellt hieraus, daß die mittels der Bangschen Methode gefundenen Werte des Zuckergehalts sehr gut mit dem gravimetrischen und polarimetrischen übereinstimmen, wenn der Harn vorher mit Mercurinitrat behandelt worden war. Wird der Harn mittels Bleiacetat geklärt, oder wird er ohne Klärung verwendet, so erhält man zu hohe Resultate; die Abweichungen sind durch die Eigenreduktion verursacht (vgl. Tabelle 1).

Wie schon erwähnt, enthielten einige der Proben erhebliche Mengen β-Oxybuttersäure, und diese Säure ist bekanntlich linksdrehend; man wird daher in Harnen, welche diese Säure enthalten, sehr erhebliche Fehler begehen können, wenn man den Zucker polarimetrisch ohne Rücksicht auf die nach beendeter Gärung vorhandene Linksdrehung bestimmt. In Tabelle 3 ist in betreff der untersuchten β-oxybuttersäurehaltigen Harne in Reihe 1 angegeben, wieviel Glucose der Harn wirklich enthielt (vgl. Tabelle 2) und in Reihe 2 und 3 wieviel durch direkte polarimetrische Untersuchung ohne Rücksicht auf die β-Oxybuttersäure gefunden wurde. In Reihe 4 und 5 ist angegeben, einer wie großen Menge β-Oxybuttersäure die nach beendeter Gärung vorhandene Linksdrehung entspricht, und die Reihe 6 hat zwei Bestimmungen der Oxybuttersäuse nach P. Bergells Methode.[1])

Tabelle 3.

β-oxybuttersäurehaltiger Harn.

No.	6	7	8	9	10	11
1. Der Harn enthält % Glucose	2,9	1,5	1,4	2,5	2,2	1,7
2. Durch Polarisation wird in dem mittels Bleiacetat geklärten Harn gefunden: % Glucose	1,8	0,6	0,3	1,5	1,2	0,7
3. Durch Polarisation wird in dem mittels Mercurinitrat gereinigten Harn gefunden: % Glucose	2,1	1,0	0,8	1,8	1,6	1,1
4. Infolge der nach beendeter Gärung gefundenen Linksdrehung, nach Klärung des Harns mittels Bleiacetat bestimmt, ist der Gehalt an β-Oxybuttersäure	2,5	2,0	2,5	2,1	2,3	0,9
5. Infolge der nach beendeter Gärung, nach Klärung des Harns mittels Mercurinitrat gefundenen Linksdrehung ist der Gehalt an β-Oxybuttersäure	1,7	1,0	1,3	1,4	1,2	0,6
6. Nach Bergells Methode bestimmt, ist der Gehalt an β-Oxybuttersäure	—	1,5	1,6	—	—	—

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 310, 1901.

Aus den in den Reihen 2 bis 5 angeführten Zahlen scheint es hervorzugehen, daß das Mercurinitrat ein wenig β-Oxybuttersäure fällt. Versucht man dasselbe mit der durch Extraktion nach Bergell gewonnenen Säure, so findet man, daß eine Fällung mit Bleiacetat oder Mercurinitrat fast ohne Einfluß auf die Drehung ist. Ferner sieht man, daß die Übereinstimmung zwischen den nach Bergell und den durch Berechnung aus der nach beendeter Gärung vorhandenen Linksdrehung gefundenen Werten eine sehr schlechte ist. Es ist hier möglich, daß der Harn außer der β-Oxybuttersäure noch andere linksdrehende Körper enthalten hat, und zwar solche, die durch Mercurinitrat, nicht aber durch Bleiacetat gefällt werden können; übrigens habe ich mich mit diesem Verhalten nicht weiter beschäftigt.

Aus den hier beschriebenen Untersuchungen geht hervor: Die Bangsche Methode zur Bestimmung der Glucose ist leicht und schnell ausführbar und gibt sehr zuverlässige Resultate. Die Methode ist zur Bestimmung des Harnzuckers wohl geeignet; der durch andere reduzierende Harnsubstanzen verursachte Fehler ist so klein, daß er für klinische Zwecke wohl ganz ohne Bedeutung ist. Will man genau arbeiten, so kann man den Harn mittels Bleiacetat oder noch besser mittelst Mercurinitrat klären und erst dann den Zucker bestimmen; auf diese Weise erhält man ganz einwandfreie Resultate.

Wenn man die wenigen und einfachen Maßregeln, die oben genannt wurden (siehe S. 78), genau beachtet, ist es leicht, die Bangschen Lösungen so herzustellen, daß sie richtig sind, d. h. daß sie mit den von Bang zur Ausarbeitung der Zuckertabelle benutzten übereinstimmen.

Anhang: Zuckerbestimmung in Melasse.

Die früher besprochene Fällung mit Mercurinitrat kann vorzügliche Dienste leisten, wenn es gilt, Zucker in dunkelfarbigen Lösungen zu bestimmen. Es mögen hier einige Versuche erwähnt werden, die ich ausgeführt habe, um den Zucker in Melasse zu bestimmen.

Es wurden folgende Lösungen verwendet:

A: 200 g Melasse mit Wasser bis auf 500 ccm verdünnt.
B: 100 ccm der Lösung A mit Wasser bis auf 200 ccm verdünnt.
C: 50 „ „ „ A „ „ „ „ 200 „ „
D: 25 „ „ „ A „ „ „ „ 200 „ „

Die Lösungen waren alle dunkelbraun und selbst in dünnen Schichten undurchsichtig. 25 ccm der Lösung A wurden mit 10 ccm Mercurinitratlösung versetzt und wie gewöhnlich mit Natron neutralisiert; nachdem die Mischung mit Wasser bis auf 100,2 ccm[1]) verdünnt und das Ganze nach Umschütteln filtriert worden war, erwies sich das Filtrat als ganz klar und so weit entfärbt, daß eine polarimetrische Untersuchung sich leicht anstellen ließ. Die Lösung war doch noch gelb; wurde aber die doppelte Menge Mercurinitrat zu derselben Menge Melasselösung angewandt, so war das Filtrat fast ganz farblos, und unter Anwendung von noch mehr Mercurinitrat wurde es ganz farblos.

Um zu untersuchen, inwiefern der Zucker durch Mercurinitrat gefällt werden konnte, führte ich einige Versuche aus, indem ich immer mehr Mercurinitrat im Verhältnis zu der Melassemenge verwendete. Die Quecksilberlösung enthält indessen freie Salpetersäure; nimmt man größere Mengen der Lösung, so kann man daher eine Invertierung riskieren. Um dies womöglich zu vermeiden, wurde die Mischung unmittelbar nach dem Zusetzen des Mercurinitrats mit Natron neutralisiert, und zwar unter Abkühlung, um eine Temperatursteigerung wegen der durch die Neutralisation freiwerdende Wärme zu verhindern. Die Resultate sind in Tabelle 4 zusammengestellt; die angeführten Zahlen geben sowohl die gemessenen Drehungen — die Lösungen wurden immer im 2 dm-Rohre untersucht — als auch, in Prozenten, die Menge Zucker, als Rohrzucker berechnet, welche die Melasse hiernach enthalten muß.

---

[1]) Da 1 l Mercurinitratlösung 220 g Quecksilberoxyd enthält (siehe S. 84), dessen spez. Gew. ca. 11 beträgt, werden 10 ccm der Lösung 2,2 g enthalten, was 0,2 ccm entsprechen wird; es wird daher 0,2 ccm Wasser zugefügt, um den von dem Volumen des Quecksilberoxyds herrührenden Fehler einigermaßen zu eliminieren.

Tabelle 4.

		Die verwendete Melasselösung A	B	C	D
25 ccm der Melasselösungen 10 „ „ Quecksilberlös.	Die gefundene Drehung:	5,20°	2,68°	1,45°	0,73°
ca. 10 „ 2 n. Natronlauge Wasser bis auf 100,2 ccm	Zuckerprozent der Melasse:	39,1	40,3	43,6	43,9
25 ccm der Melasselösungen 20 „ „ Quecksilberlös.	Die gefundene Drehung:	5,37°	2,88°	1,45°	0,73°
ca. 20 „ 2 n. Natronlauge Wasser bis auf 100,4 ccm	Zuckerprozent der Melasse:	40,4	43,3	43,6	43,0
25 ccm der Melasselösungen 40 „ „ Quecksilberlös.	Die gefundene Drehung:	5,82°	2,93°	1,47°	0,73°
ca. 16 „ 5 n. Natronlauge Wasser bis auf 100,8 ccm	Zuckerprozent der Melasse:	43,8	44,1	44·2	43,9

In einer anderen Versuchsreihe — wo die Versuche nur mit der Melasselösung A vorgenommen wurden — wurden folgende Resultate gefunden:

Tabelle 5.

	25 ccm der Melasselösung, 25 ccm der Quecksilberlösung ca. 25 ccm 2 n. Natronlauge, Wasser bis auf 250,5 ccm	25 ccm der Melasselösung, 50 ccm der Quecksilberlösung, ca. 50 ccm 2 n. Natronlauge, Wasser bis auf 251 ccm	25 ccm der Melasselösung, 100 ccm der Quecksilberlösung, ca. 100 ccm 2 n. Natronlauge, Wasser bis auf 252 ccm	25 ccm der Melasselösung, 150 ccm der Quecksilberlösung, ca. 60 ccm 5 n. Natronlauge Wasser bis auf 253 ccm
Die gefundene Drehung:	2,15 °	2,23 °	2,35 °	2,35 °
Zuckerprozent der Melasse:	40,4	41,9	44,2	44,2

Man sieht also, daß bei Anwendung steigender Mengen der Quecksilberlösung im Verhältnis zu der Melasselösung der gefundene Zuckerprozent sehr schnell bis zu einem Maximum ansteigt; fortgesetzte Vermehrung der Menge des verwendeten Mercurinitrats bleibt ohne Einfluß auf das Resultat der Analyse. Zur Beurteilung der Übereinstimmung zwischen den einzelnen Bestimmungen muß erwähnt werden, daß die angegebenen Drehungen die Durchschnittszahlen von je 10 Einstellungen

des Polarisationsapparates sind; die Übereinstimmung zwischen den 10 Einstellungen war eine solche, daß der mittlere Fehler der Durchschnittszahl, nach der gewöhnlichen Methode berechnet, nur ein paarmal über 0,5 Minuten war.

Wenn man so große Mengen der Mercurinitratlösung verwendet, riskiert man, wie schon oben erwähnt, eine Invertierung; außerdem ist es möglich, daß das Natriumnitrat, das in so großer Menge durch die Neutralisation gebildet wird, die spezifische Drehung des Zuckers beeinflußt. Um die Größe dieser Faktoren zu untersuchen führte ich mit einer reinen Rohrzuckerlösung folgenden Kontrollversuch aus.

Ca. 18 g Rohrzucker wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis auf 100 ccm verdünnt; sie hat dann einigermaßen denselben Zuckergehalt wie die Melasselösung A.

25 ccm der Lösung wurden mit Wasser bis auf 250 ccm verdünnt und polarimetrisch untersucht; die Drehung betrug 2,38°.

25 ccm der Zuckerlösung wurden mit 150 ccm Mercurinitratlösung und darauf unter Kühlung mit Natronlauge (ca. 60 ccm 5 n.) bis zur Neutralisation versetzt; nach Zusatz von Wasser bis auf 253 ccm, Umschütteln und Filtrieren wurde das Filtrat polarimetrisch untersucht, wobei sich eine Drehung von 2,35° ergab.

Man sieht also, daß, obwohl hier so große Mengen von Mercurinitrat verwendet wurden, die davon herrührende Drehungsverminderung nur 0,03° beträgt. Zur Entfärbung von 25 ccm der Melasselösung war es, wie aus den Tabellen ersichtlich, nur notwendig, etwa 50 ccm der Quecksilberlösung zu verwenden; der hierdurch verursachte Fehler wird also wohl kaum wahrnehmbar sein.

Es erhellt aus diesen Versuchen, daß Zuckerbestimmungen in Melasse leicht auszuführen sind, wenn man Mercurinitrat als Klärungsmittel benutzt. Zur Ausfällung der vorhandenen Farbstoffe und der linksdrehenden Substanzen (Eiweißkörper usw.) ist eine gewisse Menge Quecksilbersalz erforderlich; die Anwendung einer größeren Menge derselben bleibt indessen ohne jeden schädlichen Einfluß.

Ein Beitrag zur chemischen Zusammensetzung der Placenta.

Von

S. Higuchi.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Kaiserl. Universität Tokio.)

(Eingegangen am 15. November 1908.)

1. Einleitung.

Der chemischen Erforschung der Placenta hat man erst in letzter Zeit große Aufmerksamkeit zugewendet, und man findet schon jetzt eine nicht geringe Anzahl wichtiger Arbeiten darüber in der Literatur verzeichnet. Dieselben beziehen sich hauptsächlich auf die Fermente der Placenta und auf die Autolyse derselben. Was die systematische Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der normalen Placenta nach anderer Richtung hin betrifft, so liegen bis jetzt meines Wissens nur wenige Publikationen vor, von denen diejenigen von P. Sfameni, F. Bottazzi, V. Grandis und J. Gaube hervorzuheben sind.

Wie allgemein bekannt, ist die Placenta das allerwichtigste Organ für das Leben und die Entwicklung des Foetus; eine Reihe der wichtigsten Lebensfunktionen, wie Atmung, Ernährung und Ausscheidung, die im Extrauterinleben mit Hilfe verschiedener eigener Organe stattfindet, erfolgt im Intrauterinleben fast allein in der Placenta.

Es erschien daher von besonderem Interesse, die chemische Zusammensetzung der Placenta, ihre Verschiedenheit je nach dem Geschlechte des Foetus und dgl. kennen zu lernen; ferner schien es zur Erforschung ihrer chemischen Zusammensetzung noch von Bedeutung, die gewohnte Methodik der Untersuchung, bei der das Blut der Placenta mittels physiologischer Kochsalzlösung

ausgewaschen wird, zu kontrollieren und die Zusammensetzung der gewaschenen und ungewaschenen Placenta zu vergleichen. Derlei Untersuchungen haben bisher in Japan nicht stattgefunden. Die Ausführung meiner Versuche wurde mir durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Herrn Prof. Dr. Kumagawa und des Herrn Prof. Sutō ermöglicht, wofür ich ihnen auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

2. Beschaffung des Materials.

Um ganz frisches Material zur Analyse erhalten zu können, gestattete mir Herr Prof. Dr. Kinoshita im Geburtssaal der Frauenklinik der Universität zu verweilen, und sofort nach einer physiologisch normalen Geburt, der eine ebenso normale Schwangerschaft vorausgegangen war, die Placenta von je drei gesunden und reifen Knaben und Mädchen zu untersuchen.

Gleich nach der Geburt der Placenta untersuchte ich dieselbe makroskopisch und beschrieb den Befund; ich schnitt dann die Nabelschnur an der Insertionsstelle ab, entfernte die Eihäute an der Peripherie der Placenta und schälte das Amnion ab, worauf ich das anhaftende Blut mit einem reinen Tuche wegtupfte. Sodann wurde die Placenta genau gewogen; ich zerschnitt mit der Schere die Placenta in Stücke von etwa 1 ccm und gab diese in ein Glasgefäß, in das ich etwa das dreifache Volumen 94%igen Alkohols dazu goß. Darauf ließ ich das Ganze ungefähr 48 Stunden liegen und trennte dann Alkohol und Placentastücke in verschiedene Abdampfschalen; das Gefäß wurde mit etwas Alkohol ausgespült und die Flüssigkeit in die Alkoholschale gegeben. Sowohl Alkohol als auch Placentastücke wurden auf dem Wasserbade verdampft. Ersterer liefert ein tiefbraunes teerartiges Extrakt. Die Placentastücke wurden beim Verdampfen ganz trocken; war dies nicht der Fall, so wurde dies dadurch erreicht, daß neuerdings etwas Alkohol zugegeben und das Gemenge etwa 20 Minuten sieden gelassen wurde; der Alkoholrückstand wurde dem ersten Extrakt hinzugefügt und mit diesem verdampft.

Die trockenen Placentastücke wurden in einem Bronzemörser fein zerrieben und durch ein Sieb von etwa 0,25 mm Maschenweite ganz durchgesiebt; die pulverisierte Masse wurde in einem

auf etwa 50° C erwärmten eisernen Mörser mit dem Alkoholextrakt gemischt und gut durcheinander gerieben, das Pulver in Abdampfschalen gebracht und der noch enthaltene Alkohol auf dem Wasserbade verdampft; der trockene Rückstand wurde 12 Stunden im freien Raum, jedoch vor Staub geschützt, belassen, dann gewogen und aufbewahrt, bzw. zur Analyse benutzt.

Bei einer anderen Placenta entfernte ich, wie vorher, gleich nach der Geburt die Nabelschnur und die Eihäute; ich zerschnitt sie in kleine Stücke und wusch sie mit 12 l 0,9%iger Kochsalzlösung in einem Zeitraume von 1½ Stunden ungefähr 30mal, und zwar so lange, bis die Flüssigkeit ganz klar und farblos war; dann wurden die Placentastücke leicht gepreßt und in einem Gefäße mit der etwa dreifachen Alkoholmenge versetzt; die Pulverisierung geschah in der vorher beschriebenen Weise.

Das nach dieser Methode hergestellte Pulver hat eine braune Farbe und einen eigenen Geruch.

Der makroskopische Befund der Placenta und das Verhältnis zwischen dem neugeborenen Foetus und den Anhängen sind in der beigeschlossenen Tabelle (S. 98 u. 99) angegeben.

Die gegenwärtige Forschung der chemischen Zusammensetzung der Placenta kennt zur Entfernung des Blutes zwei Methoden:

1. Die Injektion von großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung in die Arteria umbilicalis.

2. Das oben angegebene Verfahren des Zerschneidens der Placenta mit folgender Auswaschung mittels Kochsalzlösung.

Die Injektionsmethode zeigte nach meiner Erfahrung, daß selbst nach der Injektion von 20 l Kochsalzlösung beim Zerschneiden der Placenta die Flüssigkeit noch eine lichtrote Färbung hatte, daß also eine vollständige Entfernung des Blutes dadurch nicht erreicht wurde. Durch Zerschneiden der Placenta und Auswaschung mit Kochsalzlösung kann dagegen das Blut vollständig entfernt werden.

Durch die Behandlung mit Kochsalzlösung wird jedoch nicht bloß das Blut aufgelöst, es werden sicherlich auch andere lösliche Stoffe der Placenta gleichzeitig entfernt. Organe, die wie die Placenta aus schwammartigem Gewebe bestehen und große Blutmengen enthalten, veranlassen wohl die eigenartige Zusammensetzung des Blutes; es ist vielleicht nicht gerecht-

Tabelle 1. Makroskopischer

		Placenta nicht mit Koch-		
	Name	Kuroiwa	Ogawa	Matsue
der Gebärenden	Alter	21	21	27
	Anzahl der Geburten	I para	I para	II para
	Hämoglobingehalt	84	87	82
	Letzte Menses	13.—15./XI.1907	2.—5./XI. 1907	22.—25./XI.1907
	Datum d. Geburt	18./VIII. 1908	18./VIII. 1908	27./VIII. 1908
des Neugeborenen	Geschlecht	♂	♂	♂
	Lage b. d. Geburt	I. Hinterhauptl.	II. Hinterhauptl.	II. Hinterhauptl.
	Körpergew. g	2490	2710	2910
	Körperlänge cm	47	51	48,5
	Kopfumfang cm	33	34	34,5
	Schulterumf. cm	35	35	30
der Placenta	Form	fast rund	oval	fast rund
	Gewicht g	363	418	360
	Längster Durchmesser cm	15	20	16,5
	Kürzest. Durchmesser cm	14	16,5	15,5
	Dicke cm	1,5	1,5	1,2
	Befund der foetalen Fläche	glatt, Gefäß verhältnismäßig schmal, Ablagerung von Fibrin fast nicht vorhanden	glatt, Gefäß normal, geringe Ablagerung von Fibrin	glatt, Gefäß normal, Ablagerung von Fibrin gering
	Befund der maternen Fläche	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, geringe Ablagerung von Fibrin in der Peripherie	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, Ablagerung von Fibrin gering	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, Fibrin nicht vorhanden
	Modus d. Geburt	nach Duncan	nach Duncan	nach Duncan
Befund der Nabelschnur		Insertio excentralis, kleinfingerdick, 50 cm lang	Insertio centralis kleinfingerdick, 65 cm lang	Insertio marginalis, zeigefingerdick, 48 cm lang
Befund der Eihäute		normal, mit einem Riß in toto geboren	normal, mit einem Riß in toto geboren	normal, mit einem Riß in toto geboren

Befund der Placenta.

salzlösung gewaschen			gewaschen
Matsuoka	Ehara	Ishie	Fujie
25	21	24	22
III para	II para	II para	I para
84	80	nicht untersucht	86
Amenorrhöe n. d. letzten Geburt	15.—17./XI.1907	18.—28./XI.1907	28.—30./X. 1907
29./VIII. 1908	29./VIII. 1908	3./IX. 1908	17./VIII. 1908
♀	♀	♀	♂
I. Hinterhauptl.	II Hinterhauptl.	I. Hinterhauptl.	II. Hinterhauptl.
3000	3220	2850	2510
47	48	46	46
32	33	32	33,5
34	38	34	33
fast rund	fast rund	rund	oval
339	393	302	421
16	19	15	18
15	18	15	16
2,0	2,0	1,3	1,3
glatt, Gefäß normal, Ablagerung von Fibrin gering	glatt, Gefäß dick, Fibrinablagerung gering	glatt, Gefäß normal, Fibrinablagerung ziemlich groß	glatt, Gefäß normal, Fibrinablagerung ziemlich groß
glatt, Grenze d. Kotyledonen nicht deutlich, Fibrinablagerung gering	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, Fibrinablagerung gering	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, Fibrinablagerung ziemlich viel	glatt, Grenze d. Kotyledonen deutlich, Fibrinablagerung gering
nach Duncan	nach Duucan	nach Duncan	nach Duncan
Insertio excentralis, zeigefingerdick, 50 cm lang	Insertio excentralis, zeigefingerdick, 50 cm lang	Insertio excentralis, kleinfingerdick, 49 cm lang	Insertio excentralis, kleinfingerdick, 52 cm lang
normal, mit einem Riß in toto geboren	normal, mit einem Riß in toto geboren	normal, mit einem Riß in toto geboren	normal, mit einem Riß in toto geboren

fertigt, aus solchen Organen das Blut auszuwaschen und das bloße Gewebe zu analysieren.

Kein Gewebe im Körper ist ohne Blut; da dasselbe in der Placenta im physiologischen Zustand durch den Placentalstoffwechsel veränderte Bestandteile enthält, ist es nach meiner Auffassung besser, die Placenta samt Blut zu analysieren. Wenn wir nun den Hämoglobingehalt des Blutes der Gebärenden bestimmen und den entsprechenden Eisengehalt berechnen, dann weïter den Eisengehalt der Placenta bestimmen, so können wir durch Abzug den Hämoglobingehalt der Placenta, bzw. ihren Blutgehalt ermitteln und die wahre Zusammensetzung der Placenta kennen lernen. Ich habe zu diesem Zwecke mittels Fleischlschen Hämometers den Eisengehalt des Blutes im Anfangsstadium der Geburt bestimmt, fand jedoch leider noch nicht die Zeit, den Eisengehalt der Placenta zu ermitteln; daher behalte ich mir diese Betrachtung für eine spätere Mitteilung vor.

3. Methodik der Analyse.

Für die Analyse verwendete ich das nach der vorher beschriebenen Methode gewonnene Pulver und bestimmte das Gewicht durch indirekte Wägung; für die gleiche Untersuchung wog ich sieben verschiedene Proben zu gleicher Zeit, um Fehler, die auf die Luftfeuchtigkeit zurückzuführen sind, nach Möglichkeit zu eliminieren.

a) Wasser und Trockensubstanz. Die Proben wurden im Trockenschrank bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und die Gewichtsabnahme als Wasser angenommen.

b) Fette und unverseifbare Substanz wurden nach der neuen Methode von Kumagawa-Sutō bestimmt.

c) Glykogen. Nach der Pflügerschen Methode wurde das Glykogen frei gemacht, in Traubenzucker invertiert und letzterer nach der von Kumagawa-Sutō verbesserten Pavyschen Methode bestimmt; hieraus berechnete ich die Glykogenmenge durch Multiplikation des Zuckerwertes für 20 ccm Ammoniakkupferlösung mit dem Koeffizienten 0,009.

d) Gesamt-S. Derselbe wurde nach dem Praktikum von Salkowski als $BaSO_4$ bestimmt und hieraus durch Multiplikation mit dem Koeffizienten 0,1373 auf S umgerechnet.

e) Gesamt-P. Die Substanz wurde ebenfalls mittels der

Salpetermischung geschmolzen und über phosphormolybdänsaures Ammon in $Mg_2P_2O_7$ übergeführt und dieses durch Multiplikation mit dem Faktor 0,2784 auf P berechnet.

f) Lecithin. Etwa 10 g des genau abgewogenen Pulvers werden zwischen gereinigte Watteschichten in eine Soxhletsche Hülse gebracht und diese mit einem Wattepropfen verschlossen; sodann wird mit 120 ccm Alkohol abs. 5 Stunden lang im Heißextraktor von Kumagawa-Sutō extrahiert; darauf wird die Hülse, welche im Extraktionszylinder steckt, abgenommen und an den Außenflächen mit Alk. abs. abgespült, der Spülalkohol in den Kolben gegossen. Nun wird an Stelle des Extraktionszylinders ein einfacher Zylinder eingeführt und wieder erhitzt; der Alkohol verdampft zum größten Teil und sammelt sich durch die Wirkung des Rückflußkühlers wieder im Zylinder an; letzterer wird nun abgenommen. Während der Kolben noch heiß ist, gießt man etwa 6- bis 7faches Volumen Äther in denselben ein und läßt das Ganze — unter Verhinderung der Verdampfung des Äthers bis zum nächsten Tag stehen. Der Äther wird darauf in eine Platinschale abgegossen, der Kolben mit etwas Äther ausgespült und die Spülmenge in die Platinschale dazugegeben. Nach Verdampfung des Äthers auf dem Wasserbade wird der Rückstand nach der oben angegebenen Methode in $Mg_2P_2O_7$ verwandelt; die erhaltene Gewichtsmenge gibt, mit dem Koeffizient 7,254 multipliziert, die gesuchte Lecithinmenge.

g) Gesamt-N wurde nach Kjeldahl bestimmt.

h) Eiweiß. Die nach Kjeldahl erhaltene N-Menge wurde durch Multiplikation mit 6,25 als Eiweiß angenommen.

i) Wasserextrakt. Ich habe versuchsweise 5 g Pulver mit 50 ccm Wasser bei 100° C je 1 Stunde 10 mal nacheinander extrahiert; das letzte Extraktionswasser war aber noch nicht ganz klar. Da eine vollständige Extraktion durch Wasser nicht möglich ist, beschränkte ich mich darauf, eine genau gewogene, etwa 5 g betragende Pulvermenge mit je 50 ccm Wasser 5 mal nacheinander zu extrahieren; das Extraktionswasser sammelte ich die ersten 4 Male im Meßkolben von 200 ccm und goß vom Extrakt beim 5. Male so viel zu, bis die Marke des Kolben erreicht war.

Ich verdampfte die Flüssigkeit auf dem Wasserbade und trocknete den Rückstand im Trockenschrank bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz.

j) Alkoholextrakt. Etwa 5 g des genau gewogenen Pulvers habe ich mittels 100 ccm Alk. abs. im Heißextraktor von Kumagawa-Sutō 5 Stunden lang extrahiert; der Alkohol wurde in den Meßkolben von 100 ccm gegossen und der Kolben des Heißextraktors mit etwas Alkohol ein paarmal ausgespült; die Spülmenge wurde in den Meßkolben geschüttet, bis die Marke von 100 ccm erreicht war. Der Alkohol wurde auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand im Trockenschrank bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

k) Asche. Das Pulver wurde verkohlt, bis kein Rauch mehr aufstieg, dann mit heißem Wasser gelöst und filtriert; sowohl Filtrat als auch Rückstand wurden getrennt getrocknet und geglüht.

4. Resultate.

Die durch die Analyse gewonnenen Resultate sind in Tabelle 2 dargestellt.

Als allgemeine Ergebnisse seien folgende angeführt:

1. Die Trockensubstanz zeigt eine braune Farbe und weist einen eigenen Geruch auf.

2. Das Wasserextrakt zeigt eine lichtbraune Färbung und riecht wie die Trockensubstanz.

3. Bei ♀ zeigt das Alkoholextrakt eine strohgelbe Farbe, dagegen bei ♂ eine bräunlichgelbe; die Färbung zeigt keinen Unterschied, ob die Placenta mit Kochsalzlösung gewaschen wurde oder nicht.

4. Der in Wasser lösliche Teil der Asche ist ganz weiß, der in Wasser unlösliche Teil zeigt dagegen wie auch bei den Analysen von Grandis zunächst eine lichtblaue Farbe. Die Gesamtasche wird — der freien Luft ausgesetzt — bald feucht; der unlösliche Teil der Asche verändert seine Farbe dabei bis zu bräunlichgelb und gibt dann Eisenoxydreaktionen.

5. Wie die Tabelle angibt, sind in den Mittelzahlen Wasser, S, Alkoholextrakt und N im Alkoholextrakt bei der Placenta von ♂ reichlicher vorhanden, dagegen die anderen Bestandteile reichlicher bei ♀. Wenn wir die Resultate einzeln vergleichen, so sind Trockensubstanz, Fett, unverseifbare Substanz, Glykogen, P, N und Eiweiß sowie Gesamtasche bei ♀ in größerer Menge vorhanden als bei ♂; sonstige Bestandteile treten bald bei ♀, bald bei ♂ in größerer Menge auf.

Tabelle 2. Zusammensetzung der Placenta.

	Placenta nicht mit Kochsalzlösung gewaschen									gewaschen
Geschlecht des Neugeborenen	männlich				weiblich					
Name der Gebärenden	Kuroiwa	Ogawa	Matsue	Mittel	Matsuoka	Ehara	Ishie	Mittel	Gesamtmittel	
Gewicht der frischen Placenta, g	363	418	360		339	393	302			421
Wasser %	85,46	84,99	88,37	86,28	83,42	83,34	83,85	83,54	84,91	88,65
Trockensubstanz %	14,54	15,01	11,63	13,73	16,58	16,66	16,15	16,46	15,09	11,35
Fett %	0,789	0,786	0,820	0,798	0,878	0,956	0,845	0,893	0,846	0,535
Unverseifbare Substanz %	0,270	0,252	0,248	0,257	0,279	0,341	0,303	0,308	0,283	0,192
Glykogen %	0,028	0,029	0,027	0,028	0,036	0,033	0,039	0,036	0,032	0,020
Gesamt-S %	0,108	0,110	0,176	0,131	0,105	0,115	0,103	0,108	0,120	0,063
Gesamt-P %	0,121	0,115	0,113	0,116	0,136	0,168	0,189	0,164	0,140	0,081
Lecithin %	0,750	0,855	0,912	0,839	1,006	1,065	0,806	0,959	0,899	0,504
Gesamt-N %	2,151	2,094	2,159	2,135	2,435	2,487	2,267	2,396	2,266	1,331
Eiweiß %	13,44	13,09	13,49	13,34	15,22	15,54	14,17	14,98	14,16	8,32
Wasserextrakt %	3,921	3,863	3,950	3,911	4,073	4,172	3,866	4,037	3,974	2,796
N in % des Wasserextraktes	10,41	10,18	10,30	10,30	10,22	10,47	10,70	10,46	10,38	9,579
Alkoholextrakt %	2,167	2,033	2,075	2,092	1,905	2,200	2,036	2,047	2,070	1,279
N in % des Alkoholextraktes	3,823	3,736	3,544	3,701	3,268	3,656	3,099	3,341	3,521	1,410
Gesamtasche %	0,799	0,863	0,817	0,826	0,909	0,984	0,896	0,930	0,878	0,709
Asche, in Wasser löslicher Teil, %	0,355	0,348	0,394	0,366	0,450	0,416	0,354	0,407	0,387	0,414
Asche, in Wasser unlöslicher Teil %	0,444	0,515	0,423	0,461	0,459	0,568	0,542	0,523	0,492	0,295

Daß die Asche der Placenta von ♀ größer ist als bei ♂, haben bereits Sfameni und Gaube angegeben. Das Verhältnis zwischen Wasser und Trockensubstanz zeigt bei Gaube annähernd die gleiche Höhe wie bei mir, jedoch finde ich zwischen ♂ und ♀ einen erheblichen Unterschied (bei ♂ mehr), während Gaube für beide Geschlechter fast ganz gleiche Ziffern erhalten hat (bei ♀ um ein geringes mehr).

6. Die mit Kochsalzlösung gewaschene Placenta besitzt mit Ausnahme von Wasser und wasserlöslicher Asche alle Bestandteile in bedeutend geringerer Menge. Das Mehr an wasserlöslicher Asche ist auf die erfolgte Auswaschung durch Kochsalzlösung zurückzuführen.

Ich möchte daraus schließen, daß die geringe Menge der Bestandteile bei der mit Kochsalzlösung gewaschenen Placenta damit zu erklären ist, daß nicht nur das Blut gelöst wird sondern auch andere in der Kochsalzlösung lösliche Stoffe der Placenta gleichzeitig mit entfernt werden.

Literaturverzeichnis.

1. F. Bottazzi, Versuche über die chemische Zusammensetzung der menschlichen Placenta. Bollettino della R. Accademia Medica di Genova 18, 245—246.
2. Basso, Über die Autolyse der Placenta. Arch. f. Gynäkologie 76, Heft 1, 1905.
3. J. Gaube, Versuch einer Statik der Mineralsubstanzen von menschlichen Mutterkuchen und Foetus. Thèse de Paris 1900, 87.
4. V. Grandis, Untersuchungen über die Zusammensetzung der Placenta. Atti della R. Accad. dei Lincei 9, 170, 1900.
5. Kumagawa und Sutō, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen in tierischem Material nebst der Kritik einiger gebräuchlichen Methoden. Diese Zeitschr. 8, 212, 1908.
6. Mathes, Über die Autolyse der Placenta. Centralbl. f. Gyn. 1901.
7. E. Pflüger, Abgekürzte quantitative Analyse des Glykogens. Arch. f. d. ges. Physiol. 103, 169.
8. E. Salkowski, Practicum der physiol. u. pathol. Chemie. 3. Aufl.
9. M. Savarè, Zur Kenntnis der Fermente der Placenta. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141, 1906.
10. P. Sfameni, Über die chemische Zusammensetzung der Placenta und des foetalen Blutes im Momente der Geburt. Arch. italien. de de Biol. 34, 216—228.
11. Winckel, Handbuch der Geburtshülfe 1, 1. Hälfte.

Zur Kenntnis des Ionengleichgewichts im Organismus.

I. Teil.

Über Basen- und Säuregleichgewicht im Harn.

Von

Lawrence J. Henderson und K. Spiro.

(Arbeiten aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 27. Oktober 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Tatsache, daß der Harn sauer reagiert, ist physiologisch von einer solchen Bedeutung, daß man sich schon lange bemüht hat, sie quantitativ festzulegen, um so mehr seit man weiß, daß unter besonderen Verhältnissen die Bildung saurer Produkte im Organismus gesteigert ist, Es hat natürlich am nächsten gelegen, das Titrationsverfahren auf den Harn anzuwenden, und es sind eine große Reihe von Methoden ausgearbeitet worden, die es gestatten, unter sich vergleichbare Resultate zu gewinnen. Zu absoluten Zahlen kann man aber auf diesem Wege nicht gelangen, da die im Harn vorkommenden Säuren einen verschiedenen Grad der Avidität zeigen und einzelne von ihnen, wie die besonders in Betracht kommende Phosphorsäure, noch dazu stufenweise dissoziiert sind. Exakter sind die Zahlen, die man mit Hilfe physikalisch-chemischer Messung erzielen kann, und es hat nicht an Versuchen gefehlt, z. B. durch Anwendung elektrischer Ketten die absolute Konzentration der $\overset{+}{H}$-Ionen im Harn zu bestimmen. Diese Zahlen geben uns aber nur eine absolute Größe, und sie sagen nichts darüber aus, welche einzelnen Bestandteile des Harns wesentlich und in wie hohem Grade sie an der Zahl der vorhandenen

Wasserstoffionen beteiligt sind. Wir besitzen aber physikalisch-chemische Methoden, auch um das Gleichgewicht mehrerer in Lösung befindlicher Säuren und Basen zu bestimmen, nämlich mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes und des Prinzips isohydrischer Lösungen, der Ionisationskonstante der Substanzen und der $\overset{+}{H}$-Ionenkonzentration der Lösung. Beim Blut sind hauptsächlich Carbonate und Phosphate in solcher Weise beteiligt, daß während des Lebens überhaupt nur geringe Änderungen der $\overset{+}{H}$-Ionenkonzentration im Blute möglich sind, während andererseits aber sehr große Mengen Alkali oder Säure durch das Blut neutralisiert werden können.

Der Harn unterscheidet sich vom Blut dadurch, daß er normalerweise nicht in beträchtlicher Menge Eiweißkörper enthält, d. h. Stoffe, welche in der von uns betrachteten Richtung durch ihr besonderes großes Basen- und Säurebindungsvermögen von Bedeutung sind, daß ferner im Gegensatz zum Blut die Phosphate über die Carbonate in hohem Grade überwiegen.

Kennt man die Ionisationskonstante aller in Betracht kommenden Säuren und Basen, so läßt sich mit dem Massenwirkungsgesetz das Gleichgewicht in einfacher Weise berechnen. Wir kennen aber natürlich nicht die Konstanten für alle Bestandteile des Harns, da wir diese selbst noch nicht alle kennen. Es muß uns daher und es kann uns aber auch genügen, wenn wir nur die wesentlichsten Stoffe berücksichtigen, und zwar auch nur diejenigen Säuren, die für die Reaktionsverhältnisse infolge ihrer relativ starken Avidität in Betracht kommen. Wir können weiter die Ionisationsverhältnisse der basischen Bestandteile außer acht lassen, weil ja der Harn sauer reagiert und demnach eine Hydrolyse von Salzen schwacher Basen nicht in Betracht kommt.

In der physikalisch-chemischen Literatur sind folgende Ionisationskonstanten von Säuren, die im Harn vorkommen, angegeben:

$$\text{Hippursäure} = 2{,}22 \times 10^{-4}$$
$$\text{Milchsäure} = 1{,}30 \times 10^{-4}$$
$$\text{Oxalsäure} = 1 \times 10^{-1}$$
$$\text{Harnsäure} = 1{,}5 \times 10^{-6}$$
$$H_2PO'_4 = 2 \times 10^{-7}$$
$$H_2CO_3 = 3 \times 10^{-7}$$

Über zwei Säuren finden sich unseres Wissens keine Angaben in der Literatur, welche beide unter pathologischen Verhältnissen besonders reichlich im Harn vorkommen und beim Studium der Acidosis eine besondere Rolle gespielt haben. Wir meinen die β-Oxybuttersäure und die in der Quantität ihres Vorkommens erst neuerdings richtig abgeschätzte Acetessigsäure. Wir haben für die beiden Säuren die Konstante mit dem einfachen Indikatorverfahren bestimmt, das von Friedenthal und Salm ausgearbeitet worden ist. Es ergab sich für β-Oxybuttersäure die Konstante rund $K = 2 \times 10^{-5}$ und für Acetessigsäure rund $K = 1,5 \times 10^{-4}$ zwei Werte, die mit der chemischen Konstitution vollständig übereinstimmen.[1])

Wir verglichen die Laugenmengen, welche nötig waren, um in Lösungen bekannten Gehaltes von Milchsäure und β-Oxybuttersäure dieselbe Farbennuance gegen Methylorange hervorzurufen. Es war das Verhältnis bei der Oxybuttersäure von Salz zur Säure gleich 0,85 zu 4,87, während es bei der Milchsäure gleich 16,23 zu 12,37 war. In einem zweiten Versuch waren die Zahlen 2,58 zu 13,70 und 19,02 zu 12,02. Daraus berechnet sich, daß die Konstante der Oxybuttersäure gleich $1,7 \times 10^{-5}$ ist. Ebenso haben wir β-Oxybuttersäure mit Essigsäure verglichen, die Zahlen waren in einem Versuch 0,69 zu 3,55 und 1,06 zu 7,79, in einem zweiten 1,49 zu 2,75 und 2,69 zu 6,16, in einem dritten 2,15 zu 2,09 und 3,95 zu 4,90. In diesem Fall benutzten wir Kongorot als Indikator. Es berechnet sich für die Konstante der Oxybuttersäure K gleich $2,3 \times 10^{-5}$. Die Differenz der Zahlen ist wahrscheinlich durch die Verschiedenheit der Indikatoren bedingt und für unsere Zwecke, da es sich nur um Feststellung der Größenordnung handelt, nicht weiter von Belang.

Acetessigsäure. Bei der Acetessigsäure verfuhren wir in derselben Weise. Es ergaben sich unter Anwendung von Methylorange verglichen mit Milchsäure im ersten Versuch die Zahlen 1,22 zu 3,07 und 7,90 zu 20,09, im zweiten 2,13 zu 2,16 und 13,59 zu 14,80, im dritten 2,91 zu 1,38 und 18,04

[1]) Der Wert für Oxybuttersäure stimmt auch überein mit den Leitfähigkeitsmessungen von Ostwald, die er jedoch nicht zur Berechnung der Ionisationskonstante benutzte wegen nicht garantierter Reinheit des Präparates.

zu 10,35, im vierten Versuch 1,98 zu 2,37 und 10,84 zu 17,54, im fünften 2,93 zu 1,42 und 17,31 zu 11,07, im sechsten 1,48 zu 2,89 und 9,29 zu 19,17 und im siebenten 2,72 zu 1,65 und 11,98 zu 16,48. Die Konstanten verglichen zur Milchsäure sind also 1,03, 1,07, 1,21, 1,35, 1,32, 1,06, 1,26, im Durchschnitt also 1,2. Daraus ergibt sich als Konstante für die Acetessigsäure K gleich $1{,}5 \times 10^{-4}$.

Für die Versuche war β-Oxybuttersäure aus Harn dargestellt und zum Vergleich eine zweite Probe aus käuflichem β-oxybuttersaurem Natrium. Acetessigsäure war gewonnen, indem man ein wenig mehr als die berechnete Menge $^{n}/_{10}$-Natronlauge zu gereinigtem Acetessigäther zusetzte, mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnte und auf Eis 48 Stunden aufbewahrte. Nachher wird die zugesetzte Menge Alkali mit $^{n}/_{10}$-Salzsäure genau neutralisiert und durch Titration gegen Penolphthalein mit Natronlauge die Menge der gebildeten Acetessigsäure bestimmt.

Aus der Gleichung

$$\frac{K\,(HA)}{(A^{-})} = (H^{+})$$

des Massenwirkungsgesetzes ergibt sich für die Lösung einer schwachen Säure das Verhältnis

$$(H)^{+} = \frac{C(HA)}{NaA}$$

Hier bedeutet C die Ionisationskonstante der Säure dividiert durch den Dissoziationsgrad des Salzes, während HA und NaA die vorhandenen Mengen von Säure und Salz bedeuten. Für gewöhnliche Zwecke genügt es anzunehmen, daß C = ist K, besonders wenn Säuren von gleicher Stärke verglichen werden, und mit dieser Vereinfachung läßt sich leicht veranschaulichen, wie die Resultate berechnet werden. In Lösungen von β-Oxybuttersäure und ihrem Natriumsalz und von Milchsäure und deren Natriumsalz, welche dieselben Färbungen mit einem Indikator ergeben, findet sich folgende Beziehung

$$H = K \times \frac{CH_3.CH.OH.CH_2COOH}{CH_3.CHOH\;.CH_2.COONa} = 1{,}38 \times 10^{-4}$$
$$\times \frac{CH_3.CHOH.COOH}{CH_3.CHOH.COONa}$$

wobei $1,38 \times 10^{-4}$ die Ionisationskonstante der Milchsäure ist. Wenn wir die Zahlen von Versuch 1 einsetzen, erhalten wir folgende Gleichung:

$$K \times \frac{4,87}{0,85} = 1,38 \times 10^{-4} \times \frac{12,37}{16,23}$$

$$K = 1,7 \times 10^{-5}$$

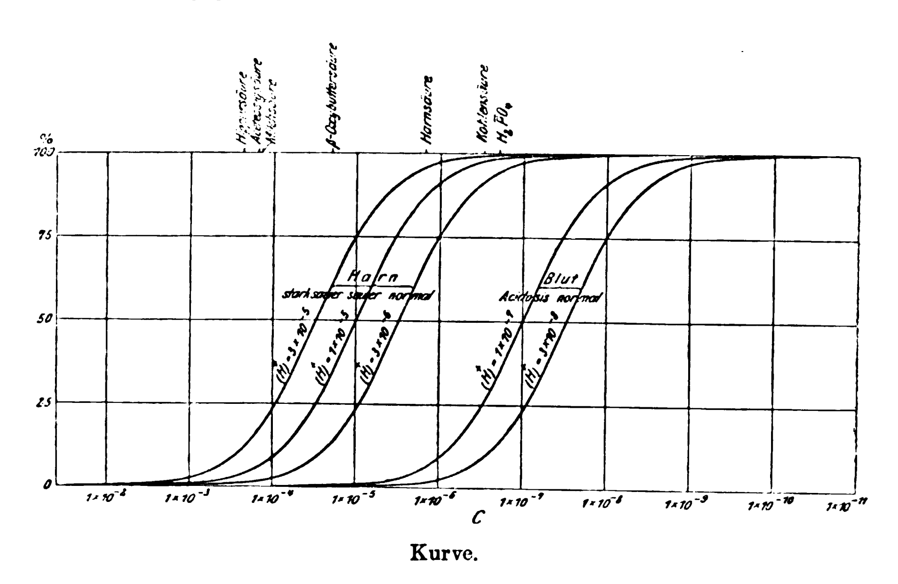
Setzt man in diese allgemeine Gleichung einen besonderen Wert für $(\overset{+}{H})$, so kann man für verschiedene Werte von C die zugehörigen Werte für das Verhältnis zwischen Säure und Salz berechnen, woraus direkt der Prozentgehalt der Gesamtsäure, welcher bei dieser Wasserstoffionenkonzentration als freie Säure vorhanden ist, sich ergibt. Folgende Tabelle enthält die berechneten Beziehungen zwischen C und freier Säure in Prozent der Gesamtsäure ausgedrückt, welche bei einer Wasserstoffionenkonzentration von 1×10^{-5} vorkommen.

X	C	X	C
99,9	1×10^{-8}	33,3	2×10^{-5}
99,0	1×10^{-7}	16,7	5×10^{-5}
90,9	1×10^{-6}	9,1	1×10^{-4}
66,7	5×10^{-6}	0,9	1×10^{-3}
50,0	1×10^{-5}	0,1	1×10^{-2}

Es läßt sich natürlich eine ähnliche Beziehung für alle anderen Wasserstoffionenkonzentrationen in derselben Weise berechnen, vorausgesetzt, daß man die sehr starken Säuren, welche bekanntlich dem Massenwirkungsgesetz nicht genau folgen, außer Betracht läßt. Mit dieser theoretisch unendlich großen Zahl von Verhältnissen zwischen Wasserstoffionenkonzentrationen, Ionisationskonstanten der Säuren und Prozentgehalt der Säuren kann man, wie einer von uns gezeigt hat,[1]) eine Kurve konstruieren, welche alle Gleichgewichte zwischen Basen und Säuren in wässerigen Lösungen darstellt. Folgende Kurve kann dazu dienen, die Verhältnisse im normalen Blut, im Blut bei sehr starker Acidosis, im Harn von gewöhnlicher Reaktion, stark saurer Reaktion und im Harn von sehr stark saurer Reaktion aufzuklären. In der Kurve sind die Werte von C logarithmisch als Abszissen verzeichnet. Als Ordinaten

[1]) Henderson, Journal of the American Chemical Society, June 1908.

kommen Prozent der Gesamtsäure, welche sich in Freiheit befinden. Die Kurven zeigen die Beziehungen zwischen diesen beiden Größen bei obigen fünf Wasserstoffionenkonzentrationen, d. h. 3×10^{-8}, 1×10^{-7}, 3×10^{-6}, 1×10^{-5} und 3×10^{-5}. Die Werte von C sind für eine Reihe physiologisch wichtiger Säuren angegeben.



Kurve.

Durch eine Betrachtung der Kurve erhellt, daß die Oxybuttersäure, während sie im Blut vollständig mit Basen als Salz gebunden ist, resp. bei Acidose bis auf 99,5%, im Harn in beträchtlicher Menge frei wird, und zwar bei einer Wasserstoffionenkonzentration von 1×10^{-5} zu ungefähr $^1/_3$ und bei einer Wasserstoffionenkonzentration von 3×10^{-5} bis auf ungefähr $^2/_3$. Diese Verhältnisse ergeben sich aus den Ordinaten, welche an der Abszisse der Oxybuttersäure 2×10^{-5} durch die verschiedenen Kurven getroffen sind. Ähnliche Beziehungen ergeben sich bei der Betrachtung der Kurve für die anderen Säuren. Man sieht z. B., daß im Harn, wie schon längst bekannt, fast kein Dinatriumphosphat vorhanden sein kann, da fast alle H_2PO_4-Ionen frei sind. So werden in sehr stark saurem Urin nach den Aciditätsbestimmungen von

v. Rhorer[1]) und von Höber[2]) 99,5% der gesamten Phosphate in der Form von MH_2PO_4 und dessen Ionisationsprodukten zugegen sein. Bei einer Wasserstoffionenkonzentration eines Urins, der etwas saurer als normal ist, wird dieser Betrag auf etwa 99% vermindert sein, und in Harn von normaler Acidität (Höber und von Rhorer) auf ungefähr 94%, im Blut bei Acidose wird dieser Betrag etwa 33% ausmachen und in normalem Blut etwa 13%. Eine Betrachtung der Kurven zeigt, daß hier die Punkte an der Abszisse des Ion H_2PO_4 durch die verschiedenen Kurven geschnitten sind. Diese Kurve kann also jegliches Basensäurengleichgewicht im Harn anzeigen und ebenso im Blut. Wir brauchen nicht zu betonen, daß die Kurve eventuell modifiziert werden muß, insofern als die experimentellen Daten, auf denen sie beruht, nämlich Bestimmungen der Wasserstoffionenkonzentration in Harn und Blut und die Ionisationskonstanten der verschiedenen Säuren eventuell inkorrekt sind. Abgesehen jedoch von der Acidität des Harnes besteht Übereinstimmung in den experimentellen Ergebnissen. Hier sprechen die Messungen von Dreser für eine höhere Konzentration an H-Ionen als diejenigen von Höber und v. Rhorer. Im übrigen beruhen die Zahlen auf der sicheren Basis des Konzentrationsgesetzes[3]), welches genau zutrifft für die hier besprochenen Substanzen.

Verschiedene wichtige Schlüsse ergeben sich aus diesen Zahlen. In erster Linie ist es evident, daß die Acidität des Harns ein enormer Vorteil für einen Organismus mit hohem Eiweißumsatz ist. Denn wenn immer im Körper Phosphorsäure fast völlig (85%) in Salze von dem Typus M_2HPO_4 umgewandelt ist, so verläßt sie den Körper faßt ausschließlich als Salz von dem Typus MH_2PO_4. Hierdurch gewinnt der Körper fast die Hälfte des Alkali, welches unter normalen Verhältnissen mit Phosphorsäure kombiniert ist, zurück und ohne Zweifel ist unter normalen Verhältnissen der Verlust von Alkali aus dem Körper hauptsächlich durch diese einfache Vorkehrung abgewendet. In entsprechender Weise verhindert natürlich die Acidität des Harns

---

[1]) v. Rhorer, Pflügers Archiv 86, 586, 1901.

[2]) Höber, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 525, 1903.

[3]) Henderson, Journal of the American Chemical Society, June 1908.

die Abgabe von Alkali als Bicarbonat, und von den weniger wichtigen Säuren gibt die Harnsäure den größeren Teil des Alkali, mit dem sie im Körper verbunden ist, an diesen zurück. Von den wichtigen Säuren, die in der Norm als Endprodukte des Stoffwechsels erscheinen, entführt nur die Schwefelsäure die ganze Quantität Alkali aus dem Körper, die zu ihrer Neutralisation erforderlich ist, Phosphorsäure nur die Hälfte dieses Betrages, Harnsäure nur ein Viertel und Kohlensäure überhaupt keines. Die Acidität des Harns ist ein sehr wirksames Mittel, um die Neutralität des Organismus aufrecht zu erhalten.

Nicht weniger wichtig sind die Beziehungen zur diabetischen Acidose, wo der Organismus nicht nur mit den normalen Endprodukten des Stoffwechsels zu tun hat, sondern auch mit enormen Mengen von β-Oxybuttersäure und Acetessigsäure, Substanzen, deren Wirkung der Körper für lange Zeit zu widerstehen imstande ist. Wie wir gesehen haben, ist die Niere imstande, einen Harn herzustellen von einer solchen Acidität, daß wenn wir die Zahlen von v. Rhorer und Höber zugrunde legen, β-Oxybuttersäure darin zu ein Drittel bis zwei Drittel frei und zu zwei Drittel bis ein Drittel mit Basen kombiniert erscheinen kann, während sie im Blut und im Protoplasma vollkommen mit Basen als Salz gesättigt ist. Außerdem kann in stark saurem Urin Acetessigsäure auftreten in Verbindung mit nur 90% der theoretischen Menge an Alkali. So scheint die Niere die Fähigkeit zu besitzen, etwa die Hälfte des Alkali, das sich im Blute mit den Säuren, wie sie im Diabetes vorkommen, verbindet, im Körper zurückzuhalten. In welchem Grade sie von dieser Fähigkeit Gebrauch macht, können wir bislang nicht sagen, da wir die Acidität des Harnes bei diabetischer Acidose und ohne therapeutische Einfuhr von Alkali nicht kennen. Auf jeden Fall aber leuchtet ein, daß die Acidität des Harnes einen mächtigen Schutzfaktor gegen Säureintoxikation darstellt. Es ist denkbar, daß eine Reizung der Niere zur Entfaltung ihrer Fähigkeit der Säurebildung in vollem Umfang ein wirksameres Mittel im Kampfe gegen die Säureintoxikation darstellte als die Darreichung von Natriumbicarbonat, die zu einer Steigerung des osmotischen Druckes der Zellen führt. Wir können jedoch hierüber ein sicheres Urteil nur gewinnen, wenn wir ausgedehnte Messungen der Wasserstoffionenkonzentration des Harns unter

den verschiedensten Bedingungen und unter dem Einfluß verschiedener therapeutischer Maßnahmen besitzen.

Zusammenfassung.

Nach Messungen der Ionisationskonstanten von β-Oxybuttersäure und Acetessigsäure wird eine Kurve aufgestellt, welche das Säurebasengleichgewicht im Harn und im Blut wiedergibt; es wird nachgewiesen, in welchem Umfange die normale Acidität des Harnes ein sehr wirksames Mittel darstellt, den Verlust von Alkali vom Körper der Carnivoren zu verhüten. Unter der Voraussetzung der Korrektheit der vorhandenen Messungen der Harnacidität wird gezeigt, daß die Niere die Fähigkeit besitzt, etwa die Hälfte des Alkali zurückzuhalten, das im Körper in der Form von Salzen der diabetischen Säuren vorkommt.

Zur Kenntnis des Ionengleichgewichts im Organismus

II. Teil.

Einfluß der Kohlensäure auf die Verteilung von Elektrolyten zwischen roten Blutkörperchen und Plasma.

Von

K. Spiro und Lawrence J. Henderson.

(Arbeiten aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg).

Seit der Beobachtung von Zuntz[1]), daß beim Einleiten von Kohlensäure in Blut die titrierbare Alkalescenz des Plasmas wächst, daß sie dagegen beim Durchleiten von Luft an Stelle der Kohlensäure wieder abnimmt, ist der bemerkenswerte Einfluß der Kohlensäure auf die Verteilung von anorganischen Substanzen zwischen Blutkörperchen und Plasma Gegenstand wiederholter Untersuchung und Erörterung gewesen. Die ursprüngliche Beobachtung wurde bestätigt durch Gürber[2]), Köppe[3]), Hamburger[4]), Höber[5]), und es wurde nachgewiesen, daß gleichzeitig Wasser und Chlorionen aus dem Plasma in die Blutkörperchen übertritt, daß aber kein Durchgang von Kalium oder Natrium durch die Membran der Blutkörperchen stattfindet. Es ist kaum erforderlich hinzuzufügen, daß gleichzeitig sowohl innerhalb als außerhalb der Zellen die Konzentration der Wasserstoffionen wachsen und die der Hydroxylionen abnehmen muß. So beobachten wir also das

---

[1]) Beiträge z. Physiol. des Blutes, J. D., Bonn 1868.

[2]) Sitzungsber. d. physiol. med. Ges. Würzburg 1895.

[3]) Pflügers Archiv 67, 189, 1897.

[4]) Zeitschr. f. Biol. 28, 405, 1891 und mit van Lier, Engelmanns Archiv 1902, 492.

[5]) Pflügers Archiv 101, 627; 102, 190, 1904.

paradoxe Schauspiel einer anscheinenden Zunahme an titrierbarer Alkalescenz, während in Wirklichkeit die Alkalescenz abnimmt. All diese Prozesse werden rückgängig gemacht, wenn in das Blut nach seiner Sättigung mit Kohlensäure Luft geleitet wird.

Durch die Untersuchungen von Hamburger und von Höber ist es zum mindesten sehr wahrscheinlich geworden, daß die Zellwände der roten Blutkörperchen unter normalen Verhältnissen für Kationen undurchgängig sind, und diese Impermeabilität müssen wir als eine der Bedingungen betrachten, unter denen der Wechsel in der Reaktion stattfindet. Dementsprechend drängt sich uns, da die Elektroneutralität der Körperchen und des Plasma im ganzen aufrecht erhalten werden, die Ansicht von Köppe auf, daß während des Vorganges negative Chlorionen das Plasma gegen negative HCO_3-Ionen der Körperchen ausgetauscht werden. Es leuchtet ein, daß Hydroxylionen ebensogut als HCO_3-Ionen an dem Austausch beteiligt sein mögen, denn wie wir sehen werden, macht Kohlensäure das Plasma weniger alkalisch als die Körperchen, wenn wir annehmen, daß gleiche Konzentration von Hydroxylionen beim Beginn des Versuches vorhanden ist.

Trotzdem ist eine ausreichende Schilderung des Vorganges und eine Erklärung dieser Erscheinung noch nicht gegeben und Höber hat die Meinung geäußert, daß wir hier das erste sichere Beispiel einer selektiven Funktion einer lebenden Membran vor uns haben unter dem Einfluß einer chemischen Substanz, nämlich der Kohlensäure. Gewisse Überlegungen haben uns zu der Annahme geführt, daß der Vorgang ein rein physikalisch-chemischer sei, abhängig von der unvollständigen Durchlässigkeit der Membran, aber in seinen Hauptzügen nicht allzuschwer mit leblosem Material zu reproduzieren. Aus dieser Überlegung sind die folgenden Experimente und theoretischen Erörterungen hervorgegangen.

Experimenteller Teil.

I. Frisch gefälltes Calciumcarbonat wurde suspendiert in einer Lösung von Natriumbicarbonat. Von diesem Gemisch wurde ein Teil der Lösung abfiltriert, und so erhielten wir zwei Lösungen von Natron-Bicarbonicum von genau gleicher Stärke,

deren eine Calciumcarbonat suspendiert enthielt. Dann wurde ein Pergamentdialysator in einen Teil der Lösung gebracht, zum Schluß wurde die Mischung von Nat. Bicarbonatlösung mit festem Calcium carb. in den Dialysierschlauch gebracht, dieser in die reine Lösung von Nat. bicarb. eingetaucht und alsdann Kohlensäure, die mit einem Teil der Lösung gewaschen war, durch die Flüssigkeiten innerhalb und außerhalb des Dialysierschlauches durchgeleitet. In bestimmten Zwischenräumen wurden je 10 ccm der Außenflüssigkeit entnommen und mit $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure titriert mit Methylorange als Indikator. In jedem Falle wurde der Titer verglichen mit dem von 10 ccm der ursprünglichen Lösung nach Zusatz einer gemessenen Menge von Säure. Die Resultate waren folgende:

Periode	Äußere Lösung	Kontrolle
I	4,36 ccm	4,18 ccm
II	4,40 „	
III	4,48 „	
IV	4,51 „	

Es hat also offenbar unter der Einwirkung der Kohlensäure eine steigende Zunahme in der titrierbaren Alkalinität der Außenflüssigkeit stattgefunden. Dieser Versuch wurde einen ganzen Tag fortgesetzt. In späteren Versuchen fanden wir jedoch, daß eine beträchtliche Zunahme an titrierbarer Alkalescenz (trotz Gebrauch eines kleinen Pergamentpapiers) in kurzer Zeit stattfinden kann.

CO_2 durchgeleitet	Außenflüssigkeit	Kontrolle
$^1/_2$ Std.	4,72 ccm	4,62 ccm
$^1/_2$ „	4,30 „	4,20 „
2 „	5,08 „	5,02 „

Der Vorgang ist reversibel, wie die folgenden Versuche zeigen. Ein System wie das beschriebene wurde 3 Stunden behandelt.

Außenflüssigkeit	Kontrolle
4,39	4,20

Alsdann wurde Luft 4 Stunden lang durch die beiden Lösungen durchgeleitet.

Außenflüssigkeit	Kontrolle
4,26	4,22

Dieser Versuch wurde wiederholt; nach 4 Stunden Kohlensäuredurchleitung:

Außenflüssigkeit	Kontrolle
5,17	4,88

Weiter nach 4 Stunden Luftdurchleitung:

Außenflüssigkeit	Kontrolle
5,07	4,88

Natürlich würde eine sehr lange Spanne Zeit erforderlich sein, um die Lösungen auf ihren Ausgangswert zurückzubringen, selbst wenn Calcium nicht durch die Membran diffundiert war, aber die letzten drei Experimente zeigen evident, daß der Vorgang im Prinzip ein umkehrbarer ist. Außerdem eliminieren sie die Möglichkeit eines Experimentierfehlers, wie er z. B. entstehen könnte durch Verdunstung.

II. Frisch gefälltes Serumglobulin wurde in Wasser gelöst mit Chloroform versetzt und 2 Tage gegen fließendes Wasser dialysiert. Dann wurde die Lösung in drei Teile geteilt und mit Natriumbicarbonatlösung gemischt, und die drei Teile wurden während zwei Tagen gegen Lösungen von Natriumbicarbonat von etwa gleicher Konzentration dialysiert unter häufigem Umrühren. Mit diesen so gewonnenen Lösungen wurden dann Versuche ausgeführt ähnlich den eben beschriebenen, indem die reinen Lösungen von Nat. bicarbonicum in den Dialysierschlauch gebracht wurden, die Lösung von Globulin und Nat. bicarbonicum als Außenflüssigkeit dienten und ein Strom von Kohlensäure, die mit der Lösung von Nat. bicarbonicum gewaschen war, durch beide Lösungen durchgeleitet wurde.

Versuch	CO_2 durchgeleitet	Alkalescenz innen	Alkalescenz[1] der Kontrolle
I	2 Std.	13,29 ccm	13,22 ccm
I	$5^1/_2$ „	13,33 „	13,15 „
II	3 „	13,59 „	13,26 „
II	4 „	13,67 „	13,33 „
III	7 „	13,92 „	13,25 „

[1]) Die Zahlen differieren ein wenig, weil nicht ganz genau dieselbe Färbung mit Methylorange in jedem einzelnen Falle als Endpunkt betrachtet wurde.

In diesem Falle ist es nicht nötig, den Prozeß umzukehren, weil bekannt ist, daß die Luft alle eingeführte Kohlensäure verdrängen würde, und so muß das System zu seinem ursprünglichen Gleichgewicht zurückkehren, da kein Durchgang von Globulin durch die Pergamentmembran stattgefunden hat. Dieser Vorgang ist also genau analog dem vorherigen und insofern, als ein Wechsel der titrierbaren Alkalescenz in Betracht kommt, auch analog zu dem Vorgang im Blute selbst.

III. Gelatineplatten, die $NaHCO_3$ und $CaCO_3$ enthielten, wurden in einer Lösung von Nat. bicarb. von gleicher Stärke suspendiert. Ein Teil dieser Suspension wurde als Kontrolle aufbewahrt, durch einen anderen Teil wurde Kohlensäure durchgeleitet wie vorher.

CO_2 durchgeleitet	Versuch	Kontrolle
2 Std.	10,59	10,53
$4^1/_2$ „	10,60	10,48

Also auch hier ein Steigen der Alkalescenz als Resultat des Durchganges von Kohlensäure.

IV. Gelatineplatten, die Magnesiumoxyd enthielten, wurden in Serum eingetaucht und Kohlensäure durch das Serum durchgeleitet. Drei Versuche wurden ausgeführt mit Kontrolle.

Versuch	Kontrolle
7,80 ccm	5,80 ccm
17,04 „	11,80 „
14,83 „	13,19 „

Also auch hier ein Anstieg der titrierbaren Alkalescenz.

Theoretischer Teil.

Die Interpretation dieser Resultate ist sehr einfach, und da ja die einzelnen Fälle ähnlich liegen, da jeder einzelne von der Gegenwart einer inaktiven Alkalireserve abhängt, wollen wir nur Serie II in Erwägung ziehen. Hier waren beim Beginn des Versuches zwei Lösungen durch Pergamentpapier geschieden, die gleiche Mengen von $NaHCO_3$, $\overset{+}{H}$ und $\overset{-}{HCO_3}$ enthielten. Außerdem enthielt jedoch die eine (äußere) Lösung Globulin und Natriumglobulin in Suspension und in Lösung, wobei

sozusagen die letztere Substanz eine inaktive Reserve an Alkali darstellte. Beim Durchleiten von Kohlensäure durch die Lösungen wurde diejenige, welche Natriumbicarbonat allein enthielt (die innere), gesättigt mit der Säure und entsprechend weniger alkalisch, aber im übrigen in ihrer Zusammensetzung nicht verändert. In der anderen (äußeren) Lösung dagegen bildete die Kohlensäure mit dem Natriumglobulin freies Globulin und neues Natriumbicarbonat. Natürlich wurde auch diese Lösung mit Kohlensäure gesättigt und weniger alkalisch wie früher, jedoch wurde hier die Alkalescenz nicht so stark vermindert wegen der Reaktion: Na-Globulin $+ H_2CO_3 =$ $NaHCO_3 +$ H-Globulin. Für die vorliegenden Betrachtungen ist es gleichgültig, ob und in welchem Grad Absorptionsverbindungen zwischen Eiweis und Natrium vorkommen. Die Menge des Natriumbicarbornats nahm zu, und dieser Anstieg in dem Gehalt an Natriumbicarbonat führte auch zu einem stärkeren Anstiege des osmotischen Druckes in dieser Lösung, verglichen mit dem osmotischen Druck der anderen Lösung, der nur beruhte auf der vermehrten Lösung von Kohlensäure. So kamen also folgende Unterschiede zustande.

Außen		Innen
Osmotischer Druck	$>$	Osmotischer Druck
$(\overset{-}{OH})$	$>$	$(\overset{-}{OH})$
$(\overset{+}{Na})$	$>$	$(\overset{+}{Na})$
$(\overset{-}{HCO_3})$	$>$	$(\overset{-}{HCO_3})$
$(\overset{+}{H})$	$<$	$(\overset{+}{H})$

Um diese Unterschiede auszugleichen, muß Wasser von der inneren Lösung zur äußeren durchtreten und Natriumbicarbonat von der äußeren zur inneren. Diese beiden Vorgänge vermehren die titrierbare Alkalescenz der inneren Lösung. Wie wir gesehen haben, muß beim Durchleiten von Luft durch die Lösungen der Prozeß quantitativ umkehrbar sein.

Es kann kein Zweifel bestehen, daß das Phänomen im Blute diesem einfachen Fall entspricht, obgleich natürlich das System chemisch viel komplizierter ist und der Fall etwas modifiziert ist durch die unvollkommene Durchlässigkeit der Membran. Wenn Kohlensäure in das Blut eingeleitet wird

und sich im Plasma löst, so dringt sie schnell in die roten Blutkörperchen ein, wobei die folgenden chemischen Veränderungen stattfinden. Im Plasma findet eine Reaktion statt zwischen den Natrium-Eiweißverbindungen und der Kohlensäure, wobei $NaHCO_3$ gebildet wird. In den Blutkörperchen findet dieselbe Reaktion statt, mit den Kalium-Eiweißverbindungen aber in größerem Maßstabe wegen des weit größeren Eiweißgehaltes der Zellen. Aber auch hier findet eine Reaktion statt zwischen Kaliumphosphat und Kohlensäure, wobei Kaliummonophosphat und Kaliumbicarbonat gebildet werden. Dies sind wahrscheinlich die einzigen wichtigen Reaktionen, die stattfinden können.[1])

Schließlich sind sowohl das Plasma wie die Körperchen gesättigt mit freier Kohlensäure.

Als Resultat dieser Änderungen wächst der osmotische Druck der Blutkörperchen stärker als der des Plasma, da mehr Alkali aus den Eiweißkörpern der Zelle freigemacht wird und weil nur hier in beträchtlichem Grade eine Reaktion zwischen Phosphaten und Carbonaten stattfindet. Die Alkalescenz (Konzentration der OH-Ionen) nimmt ab in geringerem Grade innerhalb der Zellen als außerhalb, denn die Konzentration der OH-Ionen ist proportional zu dem Verhältnis der Konzentration der Bicarbonate, dividiert durch die Konzentration der freien Kohlensäure.

$$(\overset{-}{O}H) = K \times \frac{MHCO_3}{H_2CO_3}.$$

Und während die Konzentration an freier Kohlensäure im ganzen geringer ist innerhalb der Körperchen (weil der Absorptionskoeffizient abnimmt mit der Konzentration der Lösung), ist die Konzentration an Bicarbonat hier größer wegen der stärkeren Umsetzung mit Alkaliproteinen und wegen der Umsetzung mit den Phosphaten. Beide Differenzen tragen dazu bei, die Körperchen alkalischer zu machen. Was die Unterschiede in der Konzentration der übrigen Ionen angeht, so ist es schwer, etwas zu sagen, da dauernde Unterschiede bestehen, wie z. B. in der Konzentration an $\overset{+}{K}$, $\overset{+}{Na}$ und $\overset{-}{Cl}$. Jedoch scheinen im Lichte der oben besprochenen Versuche folgende

---

1) Henderson, American Journal of Physiology 21, 427, 1908.

zwei Unterschiede, die beim Einleiten von Kohlensäure in Blut entstehen, nämlich

Plasma		Körperchen
Osmotischer Druck	$<$	Osmotischer Druck
$(O\bar{H})$	$<$	$(O\bar{H})$

zusammen mit der Undurchgängigkeit der roten Blutkörperchenwand für Kationen (?) ausreichend zu sein um die beobachteten Erscheinungen als ein einfaches physikalisch-chemisches Phänomen zu erklären.

In erster Linie ist es klar, daß das Wasser eine Tendenz haben wird, aus dem Plasma in die Blutkörperchen überzutreten, um den osmotischen Druck auszugleichen, und dieser Vorgang an sich wird einen Anstieg in der titrierbaren Alkalescenz des Plasma verursachen. In zweiter Linie werden, da Kationen nicht imstande sind zu diffundieren, um die Alkalescenz innerhalb und außerhalb der Zellen auszugleichen, um das System zu „neutralisieren", Wanderungen von Anionen, i. e. Cl-Ionen, in die Zellen, OH^{+}, HCO_3-Ionen in das Plasma stattfinden, und so wird ein Plasma entstehen von noch vermehrter titrierbarer Alkalescenz und von vermindertem Chlorgehalt. Da nun schließlich die chemischen Reaktionen, welche durch die Kohlensäure eingeleitet sind, vollkommen im Gleichgewicht und umkehrbar sind, so ist es auch klar, daß beim Verjagen der Kohlensäure mit Luft die Bewegung der Reaktionen durch die Zellwand umgekehrt und der ursprüngliche Gleichgewichtszustand hergestellt werden muß.

Im Lichte dieser Erwägung erscheint der Vorgang nicht, wie Höber angenommen hatte, als einer, bei dem die Durchlässigkeit der Membran unter dem Einfluß der Kohlensäure zu einer funktionellen Selektion führt, sondern vielmehr als ein einfacher physikalisch-chemischer Vorgang, der nur etwas modifiziert ist durch die noch nicht erklärte Eigentümlichkeit der Membran.

Viel wichtiger jedoch als die Erklärung dieses einzelnen Prozesses ist die allgemeine biologische Bedeutung dieser Vorgänge. Offenbar muß überall, wo die Spannung der Kohlensäure im Protoplasma wechselt, ein Schwanken der Alkalescenz stattfinden, wie das Höber für das Blut gezeigt hat, und eine

Schwankung im osmotischen Druck. Es müssen selbst bei den höheren Tieren, wo die Kohlensäurespannung des Blutes in wunderbar genauer Weise reguliert ist, bedeutende lokale Schwankungen in der Spannung der Kohlensäure vorkommen. Es ist im Lichte der nun besprochenen Versuche und dieser Erörterung leicht einzusehen, daß diese überall vorkommenden Schwankungen in der Spannung der Kohlensäure, und dasselbe gilt für Schwankungen anderer Stoffe auch, falls die Zellwände keine unüberwindlichen Widerstände entgegenstellen, Diffusionsströmungen veranlassen, welche zu einem Stoffaustausch führen müssen, der nur beträchtlich langsamer vor sich gehen könnte, wenn diese osmotischen Differenzen nicht bestehen würden. Wir kommen also zu dem Schluß, daß die erörterten Differenzen einen wichtigen Faktor darstellen in dem Haushalt einer jeden lebenden Zelle.

Zusammenfassung.

Es ist gezeigt worden, daß mit Hilfe von verschiedenen Substanzen, die eine inaktive Alkalireserve darstellen, das wohlbekannte Phänomen der Zunahme an titrierbarer Alkalescenz des Blutplasmas unter dem Einfluß von Kohlensäure in künstlichen heterogenen Systemen nachgeahmt werden kann. Auf Grundlage dieser Versuche wird eine theoretische Erklärung des am Blute beobachteten Phänomens gegeben.

Die physiologischen Grundlagen der Radiumemanations-therapie.[1])

Von

F. Nagelschmidt und F. L. Kohlrausch.

(Aus der Finsenklinik, Berlin. Leitender Arzt Dr. Nagelschmidt.)

(Eingegangen am 19. November 1908.)

Die klinische Anwendung von Radium-Emanation, die ihre wesentliche Bedeutung und Begründung in dem Nachweis nennenswerter Emanationsmengen in vielen bisher als indifferent geltenden Thermalquellen findet, beginnt nach und nach auch eine größere Verbreitung in der Therapie zu erlangen. Durch einige neuere fabrikmäßig hergestellte Produkte haben wir die Möglichkeit, genau dosierbare Emanationsmengen dem Organismus einzuverleiben und die Wirkungen zu studieren. Es sind bisher von verschiedenen Seiten derartige klinische Erfahrungen publiziert worden, auf deren Zusammenstellung im Anhang wir uns hier beschränken. Diese Untersuchungen haben es indessen notwendig erscheinen lassen, die physiologischen und therapeutischen Wirkungen der Radium-Emanation bei den verschiedenen Einverleibungsmethoden einer genaueren Prüfung zu unterziehen, um nach und nach in diese vollkommen neue Materie, die bisher nur rein empirischen Versuchen zugänglich war, neues Licht zu bringen. Es haben sich in den letzten Jahren folgende Autoren mit der Untersuchung über die Ausscheidungsverhältnisse eingenommener Radium-Emanation beschäftigt:

---

[1]) Ergänzung unserer Arbeit „über die physikalischen Grundlagen der Radium-Emanationstherapie", Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 1908/09 Nr. 8, 9, 10.

Elster und Geitel. (Physikalische Zeitschrift **1904**, 729.)
Stegmann und Just. (Wiener klin. Wochenschr. **1906**, Nr. 25, 761.)
Loewenthal. (Physikalische Zeitschrift **1906**, 563.)
Wiek. (Verhandl. d. deutsch. Balneolog.-Kongr. **1906**.)
Kalmann. (Zeitschr. f. physikal. u. diät. Ther., Juli **1907**.)
Loewenthal. (Berl. klin. Wochenschr. **1906**, Nr. 46.)
Laqueur. (Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 23, 6.)
Riedel. (Medizinische Klinik **1908**, Nr. 12.)
Nagelschmidt. (Berl. klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 11.)
Strasser und Selka. (Medizinische Klinik **1908**, Nr. 28.)

Von diesen wollen Elster und Geitel, Kalmann, Loewenthal und Laqueur Emanation im Urin nachgewiesen haben, während Stegmann und Just, Wiek, Riedel, Nagelschmidt sowie Strasser und Selka einen solchen Nachweis nach ihren Versuchen absolut nicht für erbracht anzusehen vermögen. Diese Widersprüche finden ihre Erklärung darin, daß für die Anstellung derartiger Experimente die exakteste physikalische Versuchsanordnung notwendig ist, um Fehlschlüsse zu vermeiden.

Unsere Versuche zerfallen in folgende Gruppen:

1. Untersuchung des Leitungswassers der Finsenklinik.
2. Untersuchung von Normalurin sowie nach Trinken von emanationshaltigem Wasser.
3. Untersuchung von Faeces.
4. Untersuchung von Leber und Galle.
5. Untersuchung von Herz, Nieren, Lunge, Milz.
6. Untersuchung von Blut.
7. Untersuchung von Atmungsluft.
8. Untersuchung von Schweiß.

Vor Mitteilung der Resultate unsrer Untersuchungen wollen wir die verschiedenen Einverleibungsmöglichkeiten einer kritischen Betrachtung unterziehen. Es kommen im wesentlichen drei Applikationen in Frage:

1. Die Herstellung von emanationshaltiger Luft gelingt in einfacher Weise, indem man Radium-Präparate in poröse Masse einschließt und einen konstanten Luftstrom mit konstanter Geschwindigkeit durch die Masse hindurchtreten läßt. Man kann auf diese Weise stark emanationshaltige Luft erzeugen

und dem Körper nennenswerte Emanationsmengen durch die Atmung zuführen. Es gelingt natürlich nicht, die gesamte in der Atmungsluft enthaltene Emanationsmenge durch die Lunge zur Resorption zu bringen, vielmehr wird bei weitem der größte Teil wieder exhaliert. Es würde nun nur nötig sein, die im Laufe der nächsten Minuten resp. Stunden exhalierten Emanationsmengen zu messen, um auf den Grad der Resorption und die Dauer der Ausscheidung Schlüsse zu ziehen. Indessen bietet diese Methode für exakte Untersuchungen große Nachteile. Zunächst ist es außerordentlich schwierig, dem Luftstrom absolut konstanten Emanationsgehalt zu erteilen; sodann ist der Prozentsatz der durch Resorption der Emanationsluft entzogenen Emanationsmenge sehr schwer feststellbar und sicherlich auch schwankend. Ferner kommt hinzu, daß bei dem Durchtritt der Emanationsluft durch die oberen Atmungswege ein Teil der Emanation mechanisch an den feuchten Wänden festgehalten wird, und so eine größere Resorption vortäuscht, als sie von der Lunge allein aus erfolgt und tatsächlich gemessen werden soll.

Da alle Untersucher in der Bejahung der Frage der Resorptionsmöglichkeit des Gases von der Lunge aus übereinstimmen, haben wir uns damit begnügt, uns ebenfalls davon zu überzeugen, daß nach erfolgter Inhalation noch stundenlang unter den nötigen Kautelen in der Ausatmungsluft Emanationsgehalt nachgewiesen werden kann (vgl. auch die Messungen unter 7). Da jedoch die Fehlerquellen dieser Methode sehr große sind, schien es uns nicht angebracht, sie zu quantitativen Messungen zu benutzen.

2. Die 2. Methode ist die Verabreichung von emanationshaltigen Bädern. Diese Applikationsart steht der Inhalationsdarreichung nahe. Da die Haut für Gase praktisch undurchlässig ist, und eine nennenswerte Resorption normalerweise von ihr aus nicht stattzufinden scheint, dürfte immerhin die Möglichkeit vorhanden sein, daß die während des Bades aus den anhaftenden Emanationsspuren späterhin sich entwickelnden Zerfallsprodukte allmählich zu einer, wenn auch sehr geringen Resorption von Radium A, B, C usw. führen können. Ob diese Quantitäten eine therapeutische Wirkung auszuüben imstande sind, müssen weitere Versuche lehren. Die Aufnahme der

Emanation selbst von der Haut aus ist jedenfalls bei einem gewöhnlichen Bade kaum in Betracht zu ziehen. Indessen findet während des Aufenthaltes im Bade eine erhebliche Aufnahme von Emanation durch die Lunge statt, und es ist sehr wohl möglich, daß diese Quantität ausreichend ist, um physiologische und therapeutische Wirkungen zu erzielen.

Die Untersuchungen von Loewenthal, sowie von den anderen Autoren, die Thermalwässer verabreicht haben und therapeutische Erfolge durch Bäder erzielten, sprechen für diese Annahme. Immerhin haben wir es auch hier mit einer sehr schwierigen Dosierung zu tun, wie aus dem Vorstehenden ersichtlich ist.

3. Es bleibt somit als die sicherste und exakten Untersuchungen am meisten zugängliche Einverleibungsmethode die Trinkkur übrig. Wenn wir genau dosierte emanationshaltige Wässer zur Verfügung haben und sofort nach der Herstellung dem zu untersuchenden Patienten per os einverleiben, so können wir sicher sein, daß die von uns berechnete Emanationsmenge in praktisch gleicher Höhe in das Innere des Organismus gelangt und hier den normalen Zerfall erleidet, resp. resorbiert wird.

Wir haben unsere Versuche unter Berücksichtigung aller uns bekannten Fehlerquellen angestellt. Es sind über die Messungen genaue Protokolle aufgenommen, wie sie auf Grund der in der Zeitschr. f. diät. u. physikal. Therapie l. c. genau geschilderten Meßmethode notwendig erscheinen. Die Ergebnisse der Protokolle haben wir ausgezogen und bringen im folgenden wegen Raummangels nur einen Teil der Versuchsprotokolle sowie die sich aus der Gesamtheit der Versuche ergebenden Resultate.

Wir möchten zunächst in Kürze die Hauptfehlerquellen besprechen, welche bei der Anstellung der Versuche berücksichtigt werden müssen, und die wir in der erwähnten Arbeit genauer beschrieben haben. Es sind dies folgende Punkte:

A. Handelt es sich um den Nachweis geringer Emanationsmengen, wie beispielsweise im Urin, so ist es absolut notwendig, vollkommen ungebrauchte Meßgefäße zu verwenden, und möglichst mit einem emanationsfreien Elektroskop zu arbeiten.

B. Die Arbeitsräume, der Beobachter und die Versuchsperson müssen — letztere jedenfalls vor der Untersuchung — als emanationsfrei erkannt sein.

C. Von besonderer Wichtigkeit ist es, daß die Kapazität der Meßgefäße ungeändert bleibt; daß beispielsweise das Schäumen viscöser Flüssigkeiten unterdrückt wird, weil der Zusammenfall des Schaumes eine Veränderung der Kapazität herbeiführt.

D. Man schütze das Elektroskop vor allen Wärme- und elektrischen Einwirkungen. Man beginne mit der Beobachtung erst, nachdem einige Minuten seit der Aufladung verstrichen sind.

E. Man wähle je nach der zu untersuchenden Substanz, ob fest, flüssig usw., die geeignetste Meßmethode und berücksichtige die jeder Meßmethode besonders anhaftenden Fehler.

1. Unsere Untersuchungen erstreckten sich zunächst auf das Leitungswasser der Finsenklinik. Wir verweisen auf die in der erwähnten Arbeit niedergelegten Protokolle und teilen als Endresultat mit, daß das Leitungswasser der Finsenklinik praktisch als emanationsfrei anzusehen ist, indem es einen konstanten Emanationsgehalt von höchstens 5 bis 6 Volt pro Stunde und Liter aufweist. Diese Untersuchung war von großer Wichtigkeit, weil die Ausspülung der Gefäße mit Leitungswasser bei der nachherigen Untersuchung von Körpern und Sekreten Emanationsgehalt oder Restaktivität hätte vortäuschen können.

Wir haben uns bei unseren physiologischen Versuchen fast ausschließlich der Trinkmethode bedient, da es uns darauf ankam, bei exakter Darreichung zu prüfen, welches Schicksal die Emanation im Organismus erleidet. Die früheren Untersucher haben sich im wesentlichen mit der Ausscheidung aus dem Harn beschäftigt. Wir sind daher dieser Frage ebenfalls näher getreten, wenngleich a priori rein theoretische Erwägungen gegen eine nennenswerte Ausscheidung von Emanation durch den Urin sprechen.

2. Die Untersuchungen, die im folgenden geschildert werden, umfaßen den größten Teil unserer Arbeit; sie zerfallen in zwei Gruppen. Es wurde den Patienten einesteils emanationshaltiges Wasser zum Trinken gegeben, zum andern kleineren Teil wurde ihnen Emanationswasser direkt in die Blase eingegossen. Die Messungen fanden im allgemeinen nur an solchen Patienten statt, von denen man wußte, daß sie emanationsfrei sein

würden; zur größeren Sicherheit wurde in jedem Einzelfalle eine Vorprobe mit Normalurin gemacht und danach erst das emanationshaltige Wasser den Patienten einverleibt.

11. und 12. Februar 1908.

Der Normalverlust wurde für einen Meßkasten einmal nach $16^1/_4$ und weiter nach $18^3/_4$ Stunden gemessen. Im ersten Falle fand man 5,3 Volt, im zweiten 5,1 Volt, so daß der Normalverlust im Mittel 5,2 Volt pro Stunde betrug.

Sodann wurden 125 ccm Normalurin eines Lupuskranken M. zu 5,5 gemessen. Der Patient erhielt darauf 50000 Emanationseinheiten zu trinken, und zwar um 12,25 Uhr. Um 2,45 Uhr wurden von ihm 225 ccm Urin gelassen und im Verlaufe von 20 Minuten zu 5,4 Volt, nach 30 Minuten zu 5,0 Volt gemessen. Im Durchschnitt also 5,2 Volt Spannungsabfall (alles gemessen pro Stunde).

Von demselben Patienten wurden um 3,55 Uhr 180 ccm Urin gelassen und der Messung unterworfen. Sie ergaben nach Verlauf von 26 Minuten 4,9 Volt pro Stunde. In weiteren 32 Minuten wurde ein Spannungsabfall von 5,1 Volt ermittelt, im Durchschnitt also 5,0 Volt Spannungsabfall pro Stunde.

Der Normalurin der vorstehenden Untersuchung war mit einigen Tropfen Olivenöl versetzt, ebenso der zu messende Urin nach Emanationsdarreichung. Die Emanationsmessung wird hierdurch jedoch in keiner Weise beeinträchtigt, wie wir in unserer bereits genannten Arbeit ausführlich nachgewiesen haben. Urin-Messungen ohne Zusatz von Olivenöl halten wir für äußerst bedenklich.

Die Messung würde also bedeuten, daß, selbst wenn der Patient sehr erhebliche Mengen Emanationswasser zu trinken bekommt, der Nachweis im Urin während der nächsten Stunden vollkommen mißlingt.

Eine zweite Messung, die gleichzeitig mit einem andern Patienten L. angestellt wurde, zeitigte im wesentlichen dasselbe Resultat. Hier sind die Zahlen nicht so einwandfrei, weil der zur Untersuchung benutzte Kasten von früheren Messungen ein wenig aktiv war. Der Normalverlust des Kastens wurde zu 11,3 Volt Spannungsabfall pro Stunde gemessen. 100 ccm

Normalurin ergaben 9 Volt Emanationsabfall. Der Patient erhielt ebenfalls 50000 Emanationseinheiten zu trinken. Es wurden 400 ccm Urin gemessen, die $1^1/_4$ Stunde nach dem Trinken gelassen wurden. Die ersten 20 Minuten der Messung ergaben 13,5 Volt, die ersten 30 Minuten von Anfang der Messung gerechnet, gaben 11,0 Volt pro Stunde. Die letzte Zahl von 11,0 Volt genommen würde besagen, daß der Spannungsabfall für die 400 ccm Urin dem Normalverlust vollkommen gleich zu setzen ist, daß also auch hier ein Plus an Emanation im Urin nicht gemessen werden konnte.

Die Messung im Normalurin ist vielleicht etwas zu niedrig ausgefallen, vermutlich infolge ungenauer Beobachtung, die bei so schwachen Aktivitäten sich doch bisweilen ereignet.

Urinmessungen.

Die Versuche ergaben:

1.	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
		Versuch am 12. Februar 1908		
Normalverlust (11. Februar angesetzt)	$16^1/_4$ Std.	14,2 + 16,3 = 30,5 5,8 + 7,8 = 13,6	201,2 114,4	$86{,}8 \times \frac{1}{16{,}25} = 5{,}3$ } 5,2
	$18^3/_4$ „	14,2 + 16,3 = 30,5 5,3 + 6,8 = 12,1	201,2 104,8	$96{,}4 \times \frac{1}{18{,}75} = 5{,}1$ }
125 ccm Normalurin (Patient M., Lupus)	40 Min.	15,7 + 15,1 = 30,8 15,0 + 14,7 = 29,7	202,1 198,4	$3{,}7 \times \frac{3}{2} = 5{,}55$
225 ccm Urin 2^{45} (50000 Einheit. 12^{25} getrunken)	20 „	14,5 + 14,9 = 29,4 14,2 + 14,7 = 28,9	197,4 195,6	$1{,}8 \times 3 = 5{,}4$ } 5,2
Derselbe in weiterer Beobachtung	30 „	14,5 + 14,9 = 29,4 14,1 + 14,6 = 28,7	197,4 194,9	$2{,}5 \times 2 = 5{,}0$ }
180 ccm Urin gelassen 3^{35}	26 „	15,4 + 16,0 = 31,4 15,1 + 15,6 = 30,7	203,9 201,8	$2{,}1 \times \frac{60}{26} = 4{,}9$ } 5,0
Derselbe	32 „	15,1 + 15,6 = 30,7 14,7 + 15,2 = 29,9	201,8 199,1	$2{,}7 \times \frac{60}{32} = 5{,}1$ }

2.	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
		Versuch am 12. Februar 1908.		
Normalverlust	32 Min.	17,2 + 17,1 = 34,3 16,0 + 16,1 = 32,1	205,5 199,5	$6{,}0 \times \frac{60}{32} = 11{,}3$
Patient L., 100 ccm Normalurin	40 "	16,4 + 16,4 = 32,8 15,5 + 15,5 = 31,0	201,7 195,8	$5{,}9 \times \frac{3}{2} = 9{,}0$
400 ccm Urin (50000 Einheiten)	20 "	14,6 + 14,3 = 28,9 14,0 + 13,8 = 27,8	188,0 183,5	$4{,}5 \times 3 = 13{,}5$
	30 "	14,6 + 14,3 = 28,9 13,9 + 13,6 = 27,5	188,0 182,5	$5{,}5 \times 2 = 11{,}0$

15. Februar 1908.

Die bisherigen Untersuchungen hatten, wie gesagt, ergeben, daß bei Aufnahme von 50000 Einheiten durch den Mund Emanation im Urin nicht nachgewiesen werden konnte.

Es wurde nunmehr einigen Patienten emanationshaltiges Wasser in die Blase eingelassen und 24 Stunden später der Urin der Messung unterworfen. Bei einem Patienten, der schon tagelang 5000 bis 10000 Einheiten getrunken hatte, wurden am 14. Februar etwa 50000 Einheiten in 10 ccm in die Blase gegeben und nach 24 Stunden 800 ccm Urin gemessen. Bei einem Normalverlust von 6,36 oder, wie aus den früheren Messungen hervorgeht, von 5 bis 6 Volt, wurden im Urin 5,4 Volt Spannungsabfall gefunden.

Die Messung eines anderen Patienten F. L., der ebenfalls 5000 Einheiten direkt in die Blase erhalten hatte, ergab im Urin nach 24 Stunden dasselbe negative Resultat. Auch dieser Patient hatte bereits vorher 10000 Einheiten tagelang getrunken.

Nunmehr wurden einem Patienten, der bisher in keiner Weise durch Radiumwasser infiziert gewesen war, rund 30000 Einheiten in 30 ccm direkt in die Blase gegeben. Nach genau einer Stunde wurden 180 ccm Urin dieses Patienten einer Messung unterworfen. Sie ergaben 2412 bzw. 2670 Volt Spannungsabfall, d. h. rund 2500 Einheiten pro Stunde.

Urinmessungen.

Patient J. D. erhielt per os: 9. Februar 5000 Einheiten; 10. Februar 5000 Einheiten; 11. Februar 10000 Einheiten; 12. Februar 10000 Einheiten; 13. Februar 10000 Einheiten. Am 14. Februar erhielt er 50000 Einheiten in die Blase.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
Versuch am 15. Februar 1908. Messung 24 Stunden später.				
Normalverlust	50 Min.	16,2 + 16,2 = 32,4 15,2 + 15,6 = 30,8	200,5 195,2	$5{,}3 \times \frac{6}{5} = 6{,}36$
800 ccm Urin + Öl	45 „	18,5 + 16,8 = 35,3 17,6 + 16,1 = 33,7	208,1 204,0	$4{,}1 \times \frac{4}{3} = 5{,}4$
Patient D. erhielt 30000 Einheiten in die Blase. Messung **1 Stunde später.** Versuch am 15. Februar 1908.				
180 ccm Urin	2 Min.	12,0 + 11,8 = 23,8 5,0 + 4,6 = 9,6	164,9 84,5	$80{,}4 \times 30 = 2412{,}0$
Dasselbe	2 „	15,0 + 14,6 = 29,6 6,1 + 6,0 = 12,1	190,8 101,8	$89{,}0 \times 30 = 2670{,}0$

Aus diesen Messungen geht wiederum indirekt hervor, daß bei den Patienten, obwohl sie tagelang 10000 Einheiten getrunken haben, im Urin sich nicht der geringste Nachweis feststellen läßt. Auch das direkt in die Blase eingegebene Emanationswasser von 50000 Einheiten läßt sich nach 24 Stunden kaum mehr nachweisen. Dagegen werden nach einer Stunde von 30000 Einheiten, direkt in die Blase gegeben, in 180 ccm noch 2500 Einheiten gemessen.

Die weiteren Untersuchungen sollten feststellen, innerhalb welcher Zeit die 30000 Einheiten im Urin nicht mehr nachgewiesen werden können, und nach welcher Gesetzmäßigkeit der Abfall in der Blase stattfindet.

Bei einem durchschnittlichen Normalverlust von 6,6 Volt wurden in 160 ccm Urin eines Patienten D., dem am Tage zuvor 25000 Einheiten direkt in die Blase gegeben waren, noch 21,6 Volt Spannungsabfall gemessen, d. h. nach Abzug des Normalverlustes 15,0 Volt.

Bei einem andern Patienten Namens R., dem in gleicher Weise am Tage zuvor 12 Uhr mittags Emanationswasser direkt in die Blase gegeben war, und zwar ca. 30000 Einheiten, wurden bei einem Normalverlust von 5,4 Volt in 230 ccm Urin 19,8 Volt gemessen, d. h. nach Abzug des Normalverlustes 14,4 Volt. Eine weitere Beobachtung von 10 Minuten ergab 12 Volt. Sonach im Mittel 13,2 Volt.

Es ist mithin festgestellt, daß, wenn den Patienten Emanationswasser direkt in die Blase gegeben wird, nach einer Stunde von 30000 Einheiten noch 2500 Einheiten Emanationswasser in rund 200 ccm gemessen werden, und daß nach Ablauf von 24 Stunden in derselben Zahl von Kubikzentimetern Urin nur noch ein Spannungsabfall von rund 13 Volt gemessen wird.

Urinmessungen.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
a) Versuche am 19. Februar 1908.				
Normalverlust	10 Min.	15,5 + 14,8 = 30,3	200,5	1,0 × 6 = 6,0; zusammen 6,6
		15,4 + 14,6 = 30,0	199,5	
	35 "	15,4 + 14,6 = 30,0	199,5	$4{,}2 \times \frac{60}{35} = 7{,}2$
		14,8 + 14,0 = 28,8	195,3	
160 ccm Urin von Patient D.	20 "	17,0 + 15,8 = 32,8	208,1	7,2 × 3 = 21,6; 21,6 − 6,6 Normalverlust = 15,0
		15,6 + 14,8 = 30,4	200,9	
b) Patient R. trinkt täglich 10000 Einheiten seit dem 11. Februar. Normalverlust in Kasten XII = 5,4.				
230 ccm Urin	10 Min.	13,7 + 13,2 = 26,9	187,2	3,3 × 6 = 19,8; Im Mittel 13,2
		13,3 + 12,9 = 26,2	183,9	Ab Normalverl. 5,4 = 14,4
	10 "	13,3 + 12,9 = 26,2	183,9	2,9 × 6 = 17,4
		13,0 + 12,6 = 25,6	181,0	Ab Normalverl. 5,4 = 12,0

22. Februar 1908.

In den weiteren Untersuchungen hatten die Patienten am Tage vorher je 10000 Einheiten, enthalten in 10 ccm Emanationswasser, direkt in die Blase bekommen.

Der Patient K., der 4 Tage nacheinander je 10000 Einheiten in die Blase erhalten hatte, zeigte 24 Stunden nach der letzten Einverleibung in 100 ccm Urin bei einem Normalverlust von 4,8 Volt 5,76 Volt Abfall, d. h. für 100 ccm Urin 0,96 Volt Abfall.

Der Patient L. zeigte bei einem Normalverlust von 2,7 Volt in 220 ccm Urin 10,2 Volt Spannungsabfall pro Stunde, d. h. 7,5 Volt.

Der Patient K. ergab in 230 ccm Urin bei einem Normalverlust von 6,6 Volt 29,7 Volt Verlust pro Stunde, d. h. nach Abzug des Normalverlustes 23,1 Volt Abfall.

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß bei Eingießung von 10000 Einheiten in die Blase binnen 24 Stunden die Aktivität sich im Urin allerdings nachweisen läßt, daß aber nur ganz minimale Mengen zurückzubleiben pflegen.

Urinmessungen.

Am Tage zuvor Emanationswasser direkt in die Blase gegeben.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
		1. Versuch am 22. Februar 1908.		
Normalverlust	15 Min.	16,2 + 16,7 = 32,9 16,0 + 16,5 = 32,5	208,4 207,2	$1,2 \times 4 = 4,8$
100 ccm Urin	25 „	15,1 + 17,2 = 32,3 14,7 + 16,9 = 31,6	200,2 197,8	$2,4 \times \frac{12}{5} = 5,76$
		2. Versuch am 22. Februar 1908.		
Normalverlust	60 Min.	16,3 + 15,2 = 31,5 15,7 + 14,9 = 30,6	204,2 201,5	$2,7 \times 1 = 2,7$
Patient L. 220 ccm Urin	10 „	14,6 + 14,5 = 29,1 14,4 + 14,2 = 28,6	196,3 194,6	$1,7 \times 6 = 10,2$
		3. Versuch am 22. Februar 1908.		
Normalverlust	60 Min.	7,8 + 7,0 = 14,8 7,3 + 6,4 = 13,7	121,6 115,0	$6,6 \times 1 = 6,6$
Patient K. 230 ccm Urin	20 „	15,3 + 16,4 = 31,7 14,7 + 14,0 = 28,7	204,8 194,9	$9,9 \times 3 = 29,7$

Die folgenden Untersuchungen dienten wiederum dazu, den Urin solcher Patienten der Messung zu unterwerfen, die nur durch Trinken Emanationswasser einverleibt erhalten hatten. Unsere bisherigen Messungen hatten regelmäßig ein negatives Resultat insofern gezeigt, als wir im Urin den Nachweis der Emanation nicht hatten erbringen können, obwohl bis zu 50000 Einheiten per os verabreicht waren.

Da man immerhin behaupten könnte, daß durch eine Ungenauigkeit der Messung oder andere Umstände, z. B. unzureichende Emanationsmengen, unsere Untersuchungen noch nicht beweisend erscheinen könnten, gingen wir dazu über, den Patienten (wir wählten allerdings nur gesunde) weit stärkere Einheiten zu geben als bisher üblich. Wir sind bis zu 150000 Einheiten heraufgegangen und teilen im folgenden unsere Messungen mit, und zwar mit voller Absicht auch solche, die wir aus irgendeinem Grunde für unrichtig halten.

So wurden einem Gesunden, St., 150000 Einheiten in 150 ccm Radiogenwasser gereicht und nach $1^1/_2$ Stunden 200 ccm Urin untersucht. Es zeigten sich im Mittel 8,8 Volt Abfall; dem gegenüber steht ein Normalverlust von 2,7 Volt (wahrscheinlich Meßfehler, da der Normalverlust 5 bis 6 Volt beträgt). In 230 ccm Normalurin fanden sich nämlich bereits 4,3 Volt, d. h. es würden sich in Ansehung des Normalurins in 290 ccm Urin $1^1/_2$ Stunden nach dem Trinken noch $8{,}8 - 4{,}3 = 4{,}5$ Volt Spannungsabfall nachweisen lassen.

Der Patient hatte niemals vorher Emanationswasser zu trinken bekommen oder war damit in Berührung gebracht, weshalb auch in den 230 ccm Normalurin nur 4,3 Volt, d. h. der Normalverlust der Luft sich zeigte.

$2^1/_4$ Stunden nach dem Trinken ließ derselbe Patient 300 ccm Urin. — Dieser zeigte in den ersten 10 Minuten der Messung 22,2 Volt Spannungsabfall pro Stunde und während der ersten 20 Minuten 23,7 Volt Spannungsabfall pro Stunde.

Das würde also bedeuten, daß sich im Gegensatz zu allen früheren zahlreichen Messungen zum erstenmal ein wirklicher, wenn auch sehr geringer Emanationsgehalt im Urin herausgestellt hätte, und zwar von rund 18 bis 19 Volt pro Stunde. Bei diesen Messungen ist allerdings hervorzuheben, daß, da inzwischen die Dunkelheit hereingebrochen war, im Nebenraum

die elektrischen Lampen gebrannt haben. Im Zimmer selbst brannte kein elektrisches Licht.

Urinmessungen.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
		Versuch am 22. Februar 1908.			
Normalurin eines Patienten	37 Min.	17,0 + 17,3 = 34,3 16,4 + 16,7 = 33,1	205,5 202,5	$3,0 \times \frac{60}{37} = 4,8$	Im Mittel 4,2
	33 "	16,4 + 16,7 = 33,1 16,0 + 16,4 = 32,4	202,5 200,5	$2,0 \times \frac{60}{33} = 3,6$	
Pat. erhielt in 150 ccm 150000 Einheiten per os; 290 ccm Urin 1½ Stunde nach dem Trinken gelassen (40 Minuten)	10 "	15,0 + 15,3 = 30,3 15,0 + 14,8 = 29,8	193,5 191,6	$1,9 \times 6 = 11,4$	Im Mittel 8,8
	10 "	15,0 + 14,8 = 29,8 14,8 + 14,6 = 29,4	191,6 190,0	$1,6 \times 6 = 9,6$	
	10 "	14,8 + 14,6 = 29,4 14,8 + 14,4 = 29,2	190,0 189,2	$0,8 \times 6 = 4,8$	
	10 "	14,8 + 14,4 = 29,2 14,6 + 14,2 = 28,8	189,2 187,6	$1,6 \times 6 = 9,6$	
300 ccm Urin desselben Patienten 3 Stunden nach dem Trinken gelassen	10 "	17,7 + 17,2 = 34,9 17,0 + 16,4 = 33,4	207,1 203,4	$3,7 \times 6 = 22,2$	Im Mittel 23,7
	10 "	17,0 + 16,4 = 33,4 15,6 + 16,4 = 32,0	203,4 199,2	$4,2 \times 6 = 25,2$	

4. März 1908.

Da bei den Untersuchungen vom 22. Februar sich zum ersten Male im Urin eines Patienten ein Gehalt an Emanation hatte nachweisen lassen, nachdem derselbe allerdings 150000 Einheiten getrunken hatte, war es dringend erwünscht, diese Untersuchungen zu wiederholen, um so mehr, als die Begleitumstände der Messung darauf schließen ließen, daß Meßfehler sich eingeschlichen haben könnten.

Es wurden zu diesem Zwecke 2 Patienten ausgewählt, die bisher niemals mit Emanation in Berührung gekommen waren. An dem Patienten M. fanden folgende Messungen statt:

I. Nachdem der Normalverlust der zur Untersuchung benutzten Glasflasche zu 9,1 bestimmt war, fanden sich in 200 ccm Normalurin 9 Volt Spannungsabfall. [NB. Der Hochspannungsapparat war in Tätigkeit.] Der Patient erhielt 12 Uhr 45 Min. 150000 Einheiten zu trinken. Nach $1^1/_2$ **Stunden** wurden 135 ccm Urin der Messung unterworfen. Sie ergaben in den ersten 20 Min. 6,9, in den zweiten 20 Min. 6,3 Volt, im Mittel also 6,6, d. h. scheinbar weniger, als der Normalverlust betrug. Jedenfalls ist, wenn der frühere Normalverlust von 5 bis 6 Volt zugrunde gelegt wird, **keine Spur von Emanation** nachzuweisen gewesen.

II. Es wurde nochmals der Normalverlust desselben Glasgefäßes bestimmt, da die ersten Zahlen aus irgendwelchen Gründen zu hoch erscheinen mußten (eventuell aktiviertes Elektroskop). Es wurden nunmehr 6 Volt bzw. 7,2 im Mittel 6,6 Volt Normalverlust bestimmt. Der Patient ließ 3 Uhr 55 Min. 280 ccm Urin. Es wurden gemessen während 20 Min. 6,3 Volt, also auch hier 3 **Stunden** nach dem Trinken **keine Spur von Emanation.**

III. Es wurde dann nochmals der Normalverlust bestimmt und zwar zu 7,2 Volt und um 4 Uhr 57 Min. 330 ccm des Patienten der Messung unterworfen. Es wurden 6 Volt Spannungsabfall gemessen, so daß auch 4 **Stunden** nach dem Trinken von 150000 Einheiten **keine Spur von Emanation** im Urin nachweisbar war.

Dieselben Untersuchungen wurden mit einem anderen Patienten P. angestellt. Auch hier ergab zufälligerweise der Normalverlust zunächst 10,5 Volt (vielleicht wurde nach dem Aufladen des Elektroskopes zu rasch mit dem Ablesen begonnen). 170 ccm Normalurin ergaben 6 Volt Spannungsabfall. Der Patient erhielt 1 Uhr 20 Min. 150000 Einheiten zu trinken. 40 Min. später, um 2 Uhr, wurden 100 ccm Urin gemessen. Sie gaben 6, bzw. 6,8 Volt Spannungsabfall, im Mittel 6,4 Volt, also auch bei diesem Patienten ließ sich die Emanation im Urin trotz der hohen Einheitenzahl nicht nachweisen, **so daß nunmehr mit Sicherheit behauptet werden kann, daß,** selbst wenn die Patienten bis 150000 Einheiten trinken, **sich innerhalb der ersten 4 Stunden im Urin der Nachweis von Emanation nicht** erbringen läßt.

Urinmessungen.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Patient M.		Versuche am 4. März 1908.			
		I.			
Normalverlust	70 Min.	16,0 + 16,3 = 32,3 14,3 + 14,7 = 29,0	206,6 196,0	$10,6 \times \frac{6}{7} = 9,1$	
200 ccm Normalurin	20 „	17,0 + 17,0 = 34,0 16,4 + 16,6 = 33,0	211,7 208,7	3,0 × 3 = 9,0	
Patient erhielt 12[45] 150000 Einheiten;	20 „	15,2 + 15,6 = 30,8 14,9 + 15,2 = 30,1	202,1 199,8	2,3 × 3 = 6,9	Im Mittel: 6,6
135 ccm Urin, gelassen $1^1/_2$ Stunde nach dem Trinken	20 „	14,9 + 15,2 = 30,1 14,5 + 15,0 = 29,5	199,8 187,7	2,1 × 3 = 6,3	
		II.			
Hochspannung von 100000 Volt und Röntgenapparat in einem Abstand von 30 m war um 3 Uhr im Betrieb.					
Derselbe Patient Normalverlust 3[18] – 3[25]	7 Min.	16,0 + 17,5 = 33,5 15,5 + 16,7 = 32,2	210,2 206,3	$3,9 \times \frac{60}{7} = 33$	
3[25] – 3[43]	18 „	15,5 + 16,7 = 32,2 15,2 + 16,4 = 31,6	206,3 204,5	$1,8 \times \frac{60}{18} = 6$	Im Mittel: 6,6
3[59]	10 „	15,2 + 16,4 = 31,6 15,0 + 16,2 = 31,2	204,5 203,3	1,2 × 6 = 7,2	
Stunden nach dem Trinken 280 ccm Urin gelassen, geschüttelt mit Öl	20 „	16,0 + 16,5 = 32,5 16,0 + 15,8 = 31,8	207,2 205,1	2,1 × 3 = 6,3	
Derselbe Patient		III.			
Normalverlust	10 Min.	16,0 + 16,2 = 32,2 15,8 + 16,0 = 31,8	206,3 205,1	1,2 × 6 = 7,2	
4 Stunden nach dem Trinken 330 ccm Urin gelassen	15 „	16,0 + 16,6 = 32,6 15,8 + 16,3 = 32,1	207,5 206,0	1,5 × 4 = 6,0	

Urinmessungen.

Patient P. erhielt 1 Uhr 20 Min. 150000 Einheiten per os.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Versuch am 4. März 1908.					
Normalverlust	70 Min.	17,4 + 17,5 = 34,9 15,3 + 15,4 = 30,7	207,1 194,8	$12,3 \times \frac{6}{7} = 10,5$	
170 ccm Normalurin	15 „	17,3 + 17,5 = 34,8 17,0 + 17,2 = 34,2	206,8 205,3	$1,5 \times 4 = 6,0$	
100 ccm Urin gelassen 2 Uhr	20 „	15,6 + 15,9 = 31,5 15,3 + 15,6 = 30,9	197,5 195,5	$2 \times 3 = 6,0$	Im Mittel: 6,4
(150000 Einheiten getrunken 1[20] Uhr)	30 „	15,6 + 15,9 = 31,5 15,1 + 15,4 = 30,5	197,5 194,1	$3,4 \times 2 = 6,8$	Im Mittel: 6,4

Wir glauben somit den Beweis erbracht zu haben, daß unter Berücksichtigung aller der genannten Fehlerquellen eine Ausscheidung von Radium-Emanation durch den Urin nach vorhergehender Darreichung selbst sehr großer Dosen weder sofort nach der Darreichung noch im Laufe mehrerer Tage stattfindet. Dieses Verhalten entspricht vollkommen unseren theoretischen Erfahrungen über die Eigenschaft der Emanation. Hiermit fällt aber auch die Berechtigung, Urinuntersuchungen zur klinischen Diagnostik oder Indikationsstellung heranzuziehen.

3. Was die übrigen Ausscheidungswege betrifft, so wenden wir uns nunmehr der Darmsekretion zu.

Wir haben diesbezüglich folgende Versuche angestellt: Es hat sich in einer Reihe von Stuhluntersuchungen gezeigt, daß innerhalb von 24 Stunden nach der Darreichung in den Faeces eine meßbare Menge von Emanation zur Ausscheidung gelangt. Es ist dies auch mit theoretischen Erwägungen übereinstimmend, insofern, als die per os einverleibte Emanationsmenge, soweit sie nicht im Darm-Traktus zur Resorption gelangt, mechanisch mit den Faeces weiterbefördert wird und so

noch als Emanation zur Ausscheidung gelangt. Es ist hier natürlich die Frage, ob nicht auch von den ev. bereits schon resorbierten Emanationsmengen in den Darm hinein wieder eine Ausscheidung stattfindet.

Auf diesem Gebiete sind unseres Wissens bisher noch keine Untersuchungen angestellt worden, mit Ausnahme von Berg und Welker. Diese Arbeit findet sich im Journ. of Biolog. Chem. **1**, 371, 1906. Die Autoren berichten, daß sie in den Faeces Aktivität hätten nachweisen können.[1]) Bei unseren diesbezüglichen Untersuchungen wurde auch hier im allgemeinen Wert darauf gelegt, zunächst die Normalfaeces auf ihre Aktivität hin zu prüfen.

19. November 1907.

Es wurden 3 Uhr 45 Min. nachmittags 50 ccm Radiogenwasser getrunken, die 18500 Einheiten enthielten, wie eine kurz vorher gemachte Messung ergab. Der Normalverlust eines gebrauchten Kastens betrug 9,3 Volt. Drei Stunden nach dem Trinken wurden 105 g Faeces der Messung unterworfen. Sie gaben in den ersten 10 Minuten 26,4 Volt, in den nächsten 40 Minuten 37,35 Volt, alles pro Stunde berechnet. Im Verlauf von $4^1/_4$ Stunden (gerechnet vom Ablauf der ersten 10 Minuten derMessung) wurden 15,1 Volt pro Stunde gefunden. Für diese Messung ist zu beachten, daß die Versuchsperson oft mit Radium in Berührung kommt.

4. März 1908.

Der Patient P. erhielt 150000 Einheiten per os. Die Untersuchung der Faeces 3 Stunden nach dem Trinken ergab folgendes Resultat:

Während der ersten 15 Minuten war der Spannungsabfall 4 Volt, während der nächsten 25 Minuten betrug der Spannungsabfall 14,9 Volt, d. h. im ganzen, wenn man die ersten 40 Minuten der Messung zugrunde legt, ein Voltabfall pro Stunde von 10,8 Volt, d. h. nach Abzug des Normalverlustes mit 3,3 ein Voltabfall von durchschnittlich 7,5 Volt pro Stunde.

Eine gleichzeitige Messung von 100 ccm Urin desselben Patienten, der 40 Minuten nach dem Trinken gelassen wurde, ergab ein völlig negatives Resultat (vgl. Urinmessung vom 4. März).

[1]) Diese Arbeit ist uns leider nicht im Original zugänglich gewesen.

Faeces-Untersuchung.

3^{45} Uhr nachm. waren (aus Apparat 338) 50 ccm = 5 × 3700 = 18500 Einheiten getrunken.

Die Versuche ergaben:

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
		Versuch am 19. November 1907.		
Normalverlust	154 Min.	14 + 16,6 = 30,6 13 + 12,0 = 25,0	199,5 175,6	$23{,}9 \times \frac{60}{154} = 9{,}3$
3 Stunden nach dem Trinken um 6^{50} wurden 105 g Faeces untersucht[1])	10 „	19 + 16,4 = 35,4 18 + 15,7 = 33,7	213,7 209,3	$4{,}4 \times 6 = 26{,}4$
	40 „	18 + 15,7 = 33,7 13 + 14,0 = 27,0	209,3 184,4	$24{,}9 \times \frac{60}{40} = 37{,}35$
	265 „	18 + 15,7 = 33,7 8,6 + 9,7 = 18,3	209,3 142,5	$66{,}8 \times \frac{60}{265} = 15{,}1$

Fäces-Messung.

Der Patient P. erhielt 150000 Einheiten per os 1^{20} Uhr mittags.
Versuch am 4. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
a) Vorprobe (Normalverlust)	18 Min.	15,0 + 15,5 = 30,5 14,9 + 15,3 = 30,2	194,1 193,1	$1{,}0 \times \frac{60}{18} = 3{,}3$	
Faeces des Patienten P. um 4^{20}, also 3 Stunden nach dem Trinken	15 „	16,4 + 17,2 = 33,6 16,2 + 17,0 = 33,2	203,7 202,7	$1{,}0 \times 4 = 4{,}0$	Im Mittel
	25 „	16,2 + 17,0 = 33,2 15,1 + 16,1 = 31,2	202,7 196,5	$6{,}2 \times \frac{60}{25} = 14{,}9$	$7{,}2 \cdot \frac{60}{40} = 10{,}$

Im Mittel:

10,8 Voltabfall pro Stunde
— 3,3 „ „ „ Normalverlust

7,5 Voltabfall pro Stunde.

1) Die Versuchsperson arbeitet viel mit Radium.

Die Faeces wurden genau wie bisher der Messung unterworfen, nur daß nicht wie beim Urin ein Schütteln stattfand, sondern daß man sie ruhig im Kasten stehen ließ, so daß erst allmählich aus der festeren Materie das Gas entweichen konnte. Hieraus erklärt sich auch das allmähliche Ansteigen des Spannungsabfalles mit der Zeit.

Natürlich waren diese Versuche über den Verbleib der Emanation noch nicht ausreichend, denn es wäre immerhin noch möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, daß die Faeces auch ohne Einverleibung emanationshaltigen Wassers eine Einwirkung aufs Elektroskop auszuüben imstande wären.

6. März 1908.

Bei einem Patienten W. wurden deshalb zunächst die Normalfaeces gemessen. Es ergab sich für 109 g — bei einem Normalverlust von 3 Volt pro Stunde — in der ersten halben Stunde ein Voltabfall von 2,22 Volt pro Stunde, für die zweite halbe Stunde ein solcher von 3,4 Volt. Für die erste Stunde also im Mittel 2,8. Die darauf folgende Stunde brachte als Resultat 4,8 Volt. Im Mittel bedeutet das 3,4 Volt, d. h. also die Normalfaeces waren emanationsfrei. Außerdem war bekannt, daß der Patient niemals mit Emanation in Berührung gekommen war. Unmittelbar nach der Messung erhielt er 150000 Einheiten Emanationswasser zu trinken.

7. März 1908.

Derselbe Patient hatte um 9 Uhr morgens wiederum 150000 Einheiten zu trinken bekommen. Der Normalverlust betrug an diesem Mittag während zweier Messungen jedesmal 3,0 Volt. Es wurden 134 g Faeces um 2 Uhr mittags der Messung unterworfen. Es ergaben sich in den ersten 50 Minuten 8,04 Volt; in den nächsten 35 Minuten 6,5 Volt, während der darauffolgenden 64 Minuten 8,34 Volt, die nächsten 100 Minuten endlich brachten 11,22 Volt, alles berechnet pro Stunde.

Das macht im Mittel 8,5 Volt oder nach Abzug des Normalverlustes 5,5 Voltabfall pro Stunde für 134 g Faeces nach Konsumierung von 300000 Einheiten innerhalb der letzten 24 Stunden.

Normalfaeces. (Patient W.)

Versuch am 6. März 1003.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	40 Min.	15,6 + 16,1 = 31,7 15,3 + 15,8 = 31,1	198,2 196,2	2,0	3,0 × 1 = 3,0
	20 „	15,3 + 15,8 = 31,1 15,1 + 15,7 = 30,8	196,2 195,2	1,0	
100 g Normalfaeces eines Patienten W.	30 „	15,1 + 15,7 = 30,8 15,0 + 15,5 = 30,5	195,2 194,1	1,1 × 2 = 2,2	Im Mittel: 3,4
	30 „	15,0 + 15,5 = 30,5 14,7 + 15,3 = 30,0	194,1 192,4	1,7 × 2 = 3,4	
	60 „	14,7 + 15,3 = 30,0 14,8 + 14,0 = 28,8	192,4 187,6	4,8 × 1 = 4,8	

Faecesuntersuchung.

Patient W. erhielt zweimal je 150000 Einheiten. (6. März mittags $3^1/_2$ Uhr und 7. März 9 Uhr morgens.)

Versuch am 7. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	20 Min.	16,0 + 16,5 = 32,5 15,9 + 16,3 = 32,2	206,9 199,9	$1,0 \times 3 = 3,0$	
	20 „	16,8 + 16,7 = 33,5 16,6 + 16,5 = 33,1	203,5 202,5	$1,0 \times 3 = 3,0$	
Mittags 2 Uhr wurden 134 g Faeces des Patienten W. gemessen	50 „	16,6 + 16,5 = 33,1 15,4 + 15,6 = 31,0	202,5 195,8	$6,7 \times \frac{6}{5} = 8,04$	Im Mittel: 8,5
	35 „	15,4 + 15,6 = 31,0 14,9 + 15,0 = 29,9	195,8 192,0	$3,8 \times \frac{12}{7} = 6,5$	
	64 „	14,9 + 15,0 = 29,9 13,8 + 13,9 = 27,7	192,0 183,1	$8,9 \times \frac{60}{64} = 8,34$	
	100 „	13,8 + 13,9 = 27,7 11,2 + 12,5 = 23,7	183,1 164,4	$18,7 \times \frac{60}{100} = 11,22$	

Im Mittel:

8,5 Voltabfall pro Stunde
— 3,0 „ „ „ Normalverlust
5,5 „ „ „

Zum Zwecke einer genaueren Kontrolle wurden dieselben Versuche noch mit einem anderen Patienten M. an den gleichen Tagen, also am 6. und 7. März 1908, durchgeführt.

6. März 1908.

Es wurden in analoger Weise zunächst 108 g Normalfaeces der Messung unterworfen.

Der Normalverlust wurde zu 10,7 Volt bestimmt. Diese Messung ist zweifellos nicht ganz richtig, da er durchschnittlich 5 bis 6 Volt beträgt.

In den ersten 20 Minuten wurde ein Spannungsabfall von 5,4 Volt, in den folgenden 30 Minuten ein solcher von ebenfalls 5,4 Volt, in weiteren 30 Minuten ein solcher von 4,2 Volt und in der nun folgenden Stunde wieder ein solcher von 5,4 Volt gemessen, alles berechnet pro Stunde. Der Patient war, wie festgestellt wurde, niemals mit Emanation in Berührung gekommen. Das Ergebnis der Messung ist genau wie an erster Stelle dahin zu deuten, daß die Normalfaeces emanationsfrei waren.

Der Patient erhielt nun am selben Tage mittags um $3^1/_4$ Uhr 50000 Einheiten zu trinken, abends 7 Uhr wiederum 50000 Einheiten und am 7. März morgens 9 Uhr nochmals 50000 Einheiten per os. Um $12^1/_2$ Uhr mittags wurden 108 g Faeces untersucht. Der Normalverlust betrug 6 Volt. Das Ergebnis der Messung war folgendes:

Innerhalb der ersten 20 Minuten betrug der Spannungsabfall 6 Volt, war also identisch mit dem Normalverlust. In weiteren 50 Minuten betrug er 7,9 Volt, weitere 35 Minuten ergaben 6,3 Volt, die darauffolgenden 64 Minuten hatten 8,9 Volt als Resultat. Hierauf wurde noch 100 Minuten weiter beobachtet und 9,42 Volt Spannungsabfall pro Stunde gefunden. Wenn man von den ersten 20 Minuten absieht, so haben wir einen Mittelwert von 8,1 Volt. Dies würde unter Abrechnung des Normalverlustes von 6 Volt allerdings nur 2,1 Volt Spannungsabfall pro Stunde bedeuten. Immerhin ist auf Grund der genauen Meßresultate der Nachweis von Spuren der Emanation nicht zu bezweifeln. Dieser Patient M. hatte im Gegensatz zu dem anderen Falle im ganzen nur 150000 Einheiten per os erhalten, während bei Patient W. 300000 Einheiten verabreicht waren.

Normalfaeces. (Patient M.)

Versuch am 6. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
Normalverlust	50 Min.	16,5 + 15,0 = 31,5 14,8 + 14,0 = 28,8	204,2 195,3	$8,9 \times \frac{60}{50} = 10,7$
108 g Normalfaeces eines Patienten M.	20 „	17,9 + 16,9 = 34,8 17,6 + 16,6 = 34,2	214,1 212,3	$1,8 \times 3 = 5,4$
	30 „	17,6 + 16,6 = 34,2 17,1 + 16,2 = 33,3	212,3 209,6	$2,7 \times 2 = 5,4$
	30 „	17,1 + 16,2 = 33,3 16,7 + 15,9 = 32,6	209,6 207,5	$2,1 \times 2 = 4,2$
	60 „	16,7 + 15,9 = 32,6 15,8 + 15,0 = 30,8	207,5 202,1	$5,4 \times 1 = 5,4$

Faecesuntersuchung.

Patient M. hatte an 2 Tagen im ganzen 150000 Einheiten per os erhalten. (6. März mittags $3^1/_4$ Uhr 50000 Einheiten; 6. März abends 7 Uhr 50000 Einheiten; 7. März morgens 9 Uhr 50000 Einheiten.)

Versuch am 7. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	24 Min.	16,0 + 16,8 = 32,8 15,7 + 16,3 = 32,0	208,1 205,7	$2,4 \times \frac{60}{24} = 6,0$	
108 g Faeces wurden $12^1/_2$ Uhr mittags untersucht	20 „	15,0 + 15,7 = 30,7 14,6 + 15,5 = 30,1	201,8 199,8	$2 \times 3 = 6,0$	
	50 „	14,6 + 15,5 = 30,1 13,8 + 14,4 = 28,2	199,8 193,2	$6,6 \times \frac{60}{50} = 7,9$	Im Mittel: 8,1
	35 „	13,8 + 14,4 = 28,2 14,0 + 13,4 = 27,4	193,2 189,5	$3,7 \times \frac{60}{35} = 6,3$	
	64 „	14,0 + 13,4 = 27,4 12,9 + 12,5 = 25,4	189,5 180,0	$9,5 \times \frac{60}{64} = 8,9$	
	100 „	12,9 + 12,5 = 25,4 11,8 + 10,4 = 22,2	180,0 164,3	$15,7 \times \frac{60}{100} = 9,42$	

Im Mittel:

8,1 Voltabfall pro Stunde
— 6,0 „ „ „ Normalverlust
2,1 „ „ „

Da die zweite Versuchsreihe am Patienten M. vom 6. und 7. März immerhin noch zu Zweifeln Anlaß geben könnte, so wurden weitere Versuche in der Weise angestellt, daß in einem Falle wiederum 300000 Einheiten verabreicht wurden, während im anderen Falle demselben Patienten M., dessen Faeces in der zweiten Versuchsreihe vom 6. und 7. März nur 2,1 Volt Spannungsabfall gezeigt hatte, nunmehr bis zum 13. März täglich morgens und nachmittags je 50000 Einheiten einverleibt wurden.

Versuch vom 12. März 1908.

Bei einem Normalverlust von 7,3 Volt ergab sich für 114 g Faeces eines Patienten, der am Morgen und Abend je 150000 Einheiten getrunken hatte, folgendes: In den ersten 36 Minuten 6 Volt Spannungsabfall, in weiteren 24 Minuten 10,3 Volt, in den folgenden Minuten 16,8 Volt. Läßt man die ersten 36 Minuten unberücksichtigt, so findet man unter Abrechnung das Normalverlustes 6,3 Volt Spannungsabfall pro Stunde. Zu diesem Außerachtlassen einer gewissen Vorbereitungszeit erscheint man deshalb berechtigt, weil das aus dem festeren Substrat entweichende Gas erst den in der Kanne darüber befindlichen Luftraum von rund 2000 ccm durchdringen und anreichern muß.

23. März 1908.

Der Patient M., der, wie gesagt, seit dem 6. März dauernd pro Tag 100000 Einheiten konsumierte, wurde der Messung unterworfen. Der Normalverlust eines gebrauchten Kastens betrug 11,9 Volt. 78 g Faeces, die mit Rücksicht auf die eben gemachten Ausführungen erst etwa 20 Minuten im fest verschlossenen Kasten aufbewahrt waren, ergaben in den ersten 37 Minuten der Messung 25,1 Volt, in weiteren 30 Minuten 30,4 Volt, in den darauffolgenden 22 Minuten 35,1 Volt, endlich in den danach beobachteten 85 Minuten 34,5 Volt. Im Mittel ergaben die 78 g Faeces des Patienten M. nunmehr 31,1 Volt, oder nach Abzug des Normalverlustes rund 20 Volt pro Stunde.

Faecesuntersuchung.

Der Patient erhielt morgens und nachmittags je 150000 Einheiiten per os.

Versuch am 12. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
Normalverlust	180 Min.	12,3 + 12,0 = 24,3 10,2 + 10,0 = 20,2	174,6 152,6	$22 \times \frac{60}{180} = 7,3$
114 g Faeces	36 „	16,6 + 17,0 = 33,6 16,0 + 16,1 = 32,1	210,5 206,0	$4,5 \times \frac{60}{36} = 6$
	27 „	16,0 + 16,1 = 32,1 15,3 + 15,4 = 30,7	206,0 201,8	$4,2 \times \frac{60}{24} = 15,5$
	71 „	15,3 + 15,4 = 30,7 13,0 + 12,8 = 25,8	201,8 182,0	$19,8 \times \frac{60}{71} = 16,8$

Im Mittel:

10,5 + 16,8 = 13,6 Voltabfall pro Stunde
— 7,3 „ „ „ Normalverlust
6,3 „ „ „

Faecesuntersuchung.

Der Patient M. erhielt 8 Tage morgens und abends 50000 Einheiten per os.

Versuch am 13. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	90 Min.	18,5 + 14,5 = 30,3 14,0 + 12,0 = 26,0	193,5 175,6	$17,9 \times \frac{2}{3} = 11,9$	
78 g Faeces	37 „	17,2 + 16,6 = 33,8 14,7 + 14,4 = 29,1	204,3 188,8	$15,5 \times \frac{60}{37} = 25,1$	Im Mittel 31,3
	30 „	14,7 + 14,4 = 29,1 12,9 + 12,7 = 25,6	188,8 173,6	$15,2 \times 2 = 30,4$	
	22 „	12,9 + 12,7 = 25,6 11,6 + 11,3 = 22,9	173,6 160,7	$12,9 \times \frac{60}{22} = 35,1$	
	85 „	11,6 + 11,3 = 22,9 7,0 + 6,8 = 13,8	160,7 111,8	$48,9 \times \frac{60}{85} = 34,5$	

Im Mittel:

31,3 Voltabfall pro Stunde
— 11,9 „ „ „ Normalverlust
19,4 „ „ „

Wenn wir nunmehr die Resultate unserer Untersuchungen über Faeces zusammenfassen, so können wir zunächst zahlenmäßig folgendes aussagen:

Die erste Untersuchung vom 19. November 1907 hatte eine Versuchsperson zum Gegenstande, die viel mit Radium in Berührung kommt. 3 Stunden, nachdem nur 18500 Einheiten getrunken waren, wurde die Faecesuntersuchung angestellt, wobei in den ersten 50 Minuten sich sehr erhebliche Aktivitätsmengen zeigten. Im weiteren Verlauf der Untersuchung fiel dann die Aktivität auf 15 Volt oder nach Abzug des Normalverlustes auf 8,5 Volt. Bei dieser Untersuchung wird es sich weniger um die Emanation selber handeln, als um die weiteren Zerfallsprodukte des Radiums, die infolge dauernder Einatmung sich abgeschieden haben.

Am 4. März werden nach dem einmaligen Genusse von 150000 Einheiten 3 Stunden nach dem Trinken 7,5 Volt gemessen. Am 6. und 7. März haben wir zwei Paralleluntersuchungen. In dem einen Falle hatte der Patient zweimal 150000 Einheiten konsumiert. Die Untersuchung ergab 5 Stunden nach der letzten Einverleibung der Emanation ein Plus von 5,5 Volt. Die gleichzeitig angestellte Untersuchung bei je dreimal 50000 Einheiten, welche 3 Stunden nach der letzten Einverleibung stattfand, zeigte als Resultat ein Plus von 2,1 Volt. In beiden Fällen zeigte es sich außerdem, daß die Normalfaeces als emanationsfrei zu betrachten waren.

Eine Messung vom 12. März bestätigt die früheren Resultate. Die Untersuchung vom 13. März bei einem Patienten, der 8 Tage lang dauernd Emanationswasser getrunken hatte, zeigt mit vollkommener Sicherheit, wie der Nachweis in den Faeces abhängig ist von der zeitlichen Einwirkung der Emanation auf den Patienten. Es wurden in diesem Falle 19,4 Volt gemessen.

Als Resultat dieser zahlenmäßigen Zusammenstellung ergibt sich folgendes:

Mit gesteigerter Einheitenzahl wächst auch die in den Faeces nachweisbare Aktivität.

Je länger die Patienten der Emanation ausgesetzt werden, sei es durch Arbeiten mit Radium, sei es durch tägliches Trinken von emanationshaltigem Wasser, um so stärker aktiv

zeigen sich die Faeces. Hier handelt es sich zweifellos nicht so sehr um eine Einwirkung der Emanation selbst, sondern um die Abscheidung der dann folgenden Zerfallsprodukte des Radiums A bis D.

Zusammenfassend können wir sagen, **daß Emanation in den Faeces ausgeschieden wird, wenngleich der bei weitem größte Teil der aufgenommenen Radiumemanation zur Resorption zu gelangen scheint.**

4. Für die Möglichkeit dieser Darmresorption spricht auch der Umstand, daß es uns gelungen ist, in der Leber und der Galle, im Gegensatz zu den übrigen inneren Organen, einen Emanationsgehalt bei interner Verabreichung im Tierversuch nachzuweisen.

Einem Kaninchen wurden 8 Tage lang täglich durchschnittlich 30000 Einheiten Emanationswasser einverleibt. Die Untersuchung erstreckte sich zunächst auf die Leber und Galle dieses Kaninchens, die rasch zerschnitten in einem Meßkasten untersucht wurde. Der Normalverlust betrug 9,2 Volt. Die erste Messung von 5 Uhr 36 Min. bis 5 Uhr 42 Min. ergab einen Spannungsabfall von 12 Volt pro Stunde. Eine weitere Messung von 6 Uhr 24 Min. bis 6 Uhr 44 Min. ergab einen Spannungsabfall von 16,2 Volt pro Stunde. Das würde demnach bedeuten, daß durch Leber und Galle immerhin eine, wenn auch sehr geringe, so doch nachweisbare Einwirkung auf das Elektroskop zustande kommt — nach Abzug des Normalverlustes von circa 5 Volt.

Es ist naturgemäß fraglich, ob es sich um die Emanation selber handelt oder um eins ihrer Zerfallsprodukte, insofern als sich in der Leber etwa Radium A bis D im Laufe der achttägigen Einverleibung von täglich 30000 Einheiten gebildet hätten.

Es wäre aber auch denkbar, daß durch die Resorption vom Darm aus im Pfortadersystem Emanation ins Blut aufgenommen, nach der Leber transportiert und dort als Restaktivität niedergeschlagen wird. Es entspricht dies ganz besonders den theoretischen Anschauungen, die wir uns im Laufe unserer Untersuchungen gebildet haben, in dem Sinne, daß die Emanation als ein Gas zu betrachten ist, welches als solches

vom Blute aufgenommen wird, und wesentlich in dem Organ auch wieder zur Ausscheidung gelangt, welches insbesondere dem Gasstoffwechsel dient, nämlich der Lunge.

5. Im Gegensatz hierzu konnten wir in Herz, Nieren, Lunge und Milz keinen Emanationsgehalt nachweisen. Dieselben wurden 3 Stunden, nachdem sie dem Tiere entnommen waren, zerschnitten und der Messung unterworfen. Bei einem Normalverlust von 7,2 Volt wurde ein Spannungsabfall von 7,3 Volt gemessen. Mit Rücksicht auf den Normalverlust ergibt sich, daß in diesen Teilen des inneren Organismus irgendwelche Emanationsmengen nach mehreren Stunden nicht nachweisbar erscheinen.

Leber und Galle eines Kaninchens.

67 g fein zerschnitten im Meßkasten untersucht.

Versuch am 24. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	15 Min.	12,9 + 12,0 = 24,9 12,7 + 11,7 = 24,4	174,2 171,9	$2{,}3 \times 4 = 9{,}2$	
17—24 täglich rund 30000 Einheiten einverleibt 67 g Leber u. Galle	8 "	13,9 + 14,2 = 28,1 14,2 + 13,5 = 27,7	188,0 186,4	$1{,}6 \times \frac{10}{8} = 12{,}0$	14,1
	20 "	10,9 + 12,3 = 23,2 10,4 + 11,9 = 22,3	167,7 162,3	$5{,}4 \times 3 = 16{,}2$	

14,1 Voltabfall pro Stunde
— 9,2 " " " Normalverlust
4,9 Voltabfall pro Stunde.

6. Wir haben ferner versucht festzustellen, ob das Blut imstande ist, Emanation aufzunehmen:

Wie bekannt, ist die Emanation ein Gas. Nun werden viele Gase absorbiert, jedoch in sehr verschiedenem Maße, und es existieren noch keine Untersuchungen darüber, welche Umwandlungen Radiumemanation innerhalb der Blutbahn eventuell erleidet. Der Nachweis, daß im Blute vorhandene Emanation

Lunge, Herz, Nieren, Milz.

155 g fein zerschnitten, im Meßkasten untersucht, und zwar 3 Stunden nach Tötung des Kaninchens.

Versuch am 24. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
Normalverlust	15 Min.	15,1 + 18,3 = 33,4 15,0 + 17,7 = 32,7	211,4 209,6	1,8 × 4 = 7,2
Lunge, Herz, Nieren, Milz wie oben	30 „	11,1 + 13,1 = 24,2 10,8 + 12,8 = 23,6	173,0 169,8	3,2 × 2 = 6,4
	18 „	13,0 + 12,6 = 25,6 12,8 + 12,3 = 25,1	177,4 175,2	$2{,}2 \times \frac{60}{18} = 7{,}3$

durch die Nieren zur Ausscheidung gelangen kann, ist noch nicht erbracht, denn es ist noch nicht festgestellt, daß überhaupt das Blut Emanation aufzunehmen vermag.

Um nunmehr den Nachweis zu führen, ob per os einverleibte Emanation sich im Blute von Versuchstieren nachweisen läßt oder nicht, wurden einem Kaninchen an 5 Tagen anfangs 30000, zum Schluß 60000 Einheiten einverleibt. Am 13. März, am Tage der letzten Einverleibung, fand eine Blutuntersuchung statt. Der Normalverlust betrug 3,45 Volt, es wurden dem Tiere 25 ccm Blut entnommen, die sofort in den Meßkasten einliefen. Die Untersuchung ergab für die ersten 30 Minuten einen Verlust von 4,8 Volt, in den nächsten 15 Minuten einen Verlust von 4,4 Volt. Im Mittel wurden somit für 25 ccm Blut 4,6 Volt gemessen. Dieser Spannungsabfall erscheint uns jedoch identisch mit dem Normalverlust. Um aber auch hier jeden Zweifel auszuschließen, wurden an demselben Kaninchen die Versuche fortgesetzt.

Es wurden dem Kaninchen vom 17. bis 24. April 1908 täglich durchschnittlich 30000 Einheiten Emanationswasser per os einverleibt. Der Normalverlust betrug 7,2 Volt. Es wurden 40 ccm Blut untersucht. Den 40 ccm Blut waren 10 ccm Oxalsäure und 10 ccm Olivenöl zugesetzt, um die Gerinnung und das Schäumen zu vermeiden. Die Beobachtung

dauerte 71 Minuten; es wurden im Mittel 7,1 Volt Spannungsabfall gemessen. Das würde bei einem Normalverlust von 7,2 Volt bedeuten, daß trotz der sehr erheblichen und dauernden Emanationsmengen, die dem Tiere einverleibt waren, keine Spur von Emanation im Blute nachweisbar erscheint.

Weitere Untersuchungen über den Verbleib der Emanation im Blute wurden im September 1908 in folgender Weise angestellt:

Es wurden einem Kaninchen um 1 Uhr 30 Min. intravenös 90 ccm Radiogenwasser mit 72000 Einheiten einverleibt und je 20 ccm Blut einmal nach 45 Min., das andere Mal nach 90 Min. gemessen. Der Normalverlust des Kastens betrug 3,7 Volt. 20 ccm Blut — 45 Min. nach Einspritzung entnommen — wurden mit 2 ccm Oxalsäure und 100 ccm Wasser versetzt, dann kräftig geschüttelt und der Spannungsabfall gemessen. Es ergab sich während der ersten 6 Min. ein Spannungsabfall von 30 Volt, während der nächsten 15 Min. der Beobachtung ein solcher von 19,6 Volt.

Nach weiteren $^3/_4$ Stunden wurden 20 ccm Blut entnommen, mit 2 ccm Oxalsäure versetzt; während der ersten 6 Min. wurden 26 Volt gemessen, während der ersten 20 Min. 11,1 Volt. Die Mittelwerte ergaben nach Abzug des Normalverlustes 45 Min. nach Einverleibung 21,1 Volt für 20 ccm und 90 Min. später 14,8 Volt für weitere 20 ccm. Wir sehen somit, wie von den einverleibten 72000 Einheiten, von denen doch sicher ein sehr großer Teil direkt ins Blut gelangt ist, schon nach ganz kurzer Zeit nur noch verschwindend geringe Mengen im Blute nachweisbar sind, die mit fortschreitender Zeit abnehmen.

7. Untersuchungen über die Ausatmungsluft von Patienten, denen per os Radiogenwasser einverleibt war:

Diese Untersuchungen konnten naturgemäß nicht nach der gewöhnlichen Schüttelmethode angestellt werden, sondern wurden mit Hilfe des von Elster und Geitel angegebenen Apparates zur Bestimmung der Radioaktivität von Bodenproben und Quellsedimenten ausgeführt. Der Apparat ist in der Zeitschrift für Instrumentenkunde, Juli 1904, beschrieben. Es wurde eine Wasch- oder Wulffsche Flasche vorgeschaltet, desgleichen wurde ein Gummigebläse in den Zirkulationskreis gelegt. Zu-

Blutuntersuchung.

Einem Kaninchen waren folgende Emanationsmengen per os einverleibt:

9. März 1908: 30000 Einheiten,
10. „ „ 30000 „
11. „ „ 30000 „
12. „ „ 35000 „
13. „ „ 60000 „

Versuch am 13. März 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	40 Min.	13,8 + 13,0 = 26,8	186,7	$2,3 \times \frac{60}{40} = 3,45$	
		13,2 + 13,1 = 26,3	184,4		
25 ccm Blut sofort in den Meßkasten gegeben	30 „	15,4 + 14,9 = 30,3	200,5	$2,4 \times 2 = 4,8$	Im Mittel: 4,6
		15,0 + 14,6 = 29,6	198,1		
	15 „	15,0 + 14,6 = 29,6	198,1	$1,1 \times 4 = 4,4$	
		15,0 + 14,3 = 29,3	197,0		

Demselben Kaninchen waren weiter folgende Emanationsmengen per os einverleibt:

17. März 1908: 30000 Einheiten,
18. „ „ 30000 „
19. „ „ 30000 „
20. „ „ 33000 „
21. „ „ 28000 „
22. „ „ 28000 „
23. „ „ 22000 „
24. „ „ 28000 „

Versuch am 24. März 1901.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	30 Min.	17,4 + 16,2 = 33,6	210,5	$3,6 \times 2 = 7,2$	
		16,7 + 15,7 = 32,4	206,9		
30 ccm Blut + 10 ccm Oxalsäure + 8 ccm Olivenöl	10 „	15,1 + 15,2 = 30,3	200,5	$1,4 \times 6 = 8,4$	Im Mittel: 6,9
		15,0 + 14,9 = 29,9	199,1		
	44 „	15,0 + 14,9 = 29,9	199,1	$4,9 \times \frac{60}{44} = 6,7$	
		14,3 + 14,2 = 28,5	194,2		
	15 „	14,3 + 14,2 = 28,5	194,2	$1,4 \times 4 = 5,6$	
		14,0 + 14,1 = 28,1	192,8		

Im Mittel: 6,9 Voltabfall pro Stunde bei einem Normalverlust von 7,2 „ „ „

Blutuntersuchung.

Einem Kaninchen werden 90 ccm Radiogenwasser = 72000 Einheiten intravenös einverleibt.

Versuch am 2. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde	
Normalverlust	60 Min.	13,6 + 13,2 = 26,8	176,1	3,7 × 1 = 3,7	
		13,1 + 12,9 = 26,0	172,4		
I. 20 ccm Blut 45 Min. nach Einverleibung der Emanation + 2 ccm Oxalsäure + 100 ccm Wasser	6 "	12,6 + 12,5 = 25,1	168,2	3,0 × 10 = 30	24,8
		12,3 + 12,2 = 24,5	165,2		
	15 "	12,3 + 12,2 = 24,5	165,2	4,9 × 4 = 19,6	
		11,8 + 11,7 = 23,5	160,3		
II. 20 ccm Blut 1½ Stund. nach Einverleibung + 2 ccm Oxalsäure + 200 ccm Wasser, etwas Schaum	6 "	11,5 + 11,8 = 23,3	159,3	2,6 × 10 = 26	18,55
		11,3 + 11,5 = 22,8	156,7		
	20 "	11,5 + 11,8 = 23,3	159,3	3,7 × 3 = 11,1	
		11,2 + 11,4 = 22,6	155,6		

I. Im Mittel:	II. Im Mittel:
24,8 Voltabfall p. Std.	18,5 Voltabfall p. Std.
— 3,7 " " " Normalverlust	3,7 " " " Normalverlust
21,1 Voltabfall p. Std.	14,8 Voltabfall p. Std.

nächst wurden in der Flasche 40 ccm Leitungswasser geprüft. 10 Minuten lang ließ man die Luft durch den Apparat zirkulieren und fand als Normalverlust 8,4 Volt. Die Höhe dieses Verlustes ist erklärlich, wenn man bedenkt, daß der Apparat schon früher zu Messungen von Quellsedimenten gedient hatte. Der Zirkulationskreis wurde getrennt, und der Patient angehalten, seine Ausatmungsluft durch das Ansatzstück in den Apparat zu entleeren. Es ergab sich ein Spannungsabfall von 22 Volt, den man somit als Normalverlust für diesen Patienten anzusehen hätte.

Hierauf erhielt der Patient 2000 Einheiten Radiogenwasser zu trinken, 5 Minuten lang bewegte sich derselbe in frischer Luft und ließ dann 2 Minuten lang seine Ausatmungsluft durch den Apparat hindurchstreichen. Es wurde nunmehr ein Spannungsabfall von 33 Volt gemessen. Hiernach erhielt derselbe

Patient in 10 ccm 8000 Einheiten zu trinken, die er direkt mit der Pipette aus dem Abfüllgefäß ansog. Der Radiogen-Emanator war kurz vorher zu 8000 Einheiten in 10 ccm gemessen und hatte auch 4 Monate früher dieselbe Menge geliefert. Sofort nach der Einnahme des Radiogenwassers ließ der Patient zunächst 2 Minuten lang seine Ausatmungsluft durch den Apparat hindurch. Es wurde für diese 2 Minuten ein Spannungsabfall von 13,5 Volt gemessen, was umgerechnet auf die Stunde 405 Volt bedeuten würde.

Während der folgenden 3 Minuten wurde der Spannungsabfall weiter beobachtet, ohne daß der Patient Luft durch den Apparat hindurchließ; es wurden 314 Volt Spannungsabfall pro Stunde gefunden. Die Messung würde somit besagen, daß von den 8000 getrunkenen Einheiten sofort ein großer Teil durch die Ausatmungsluft wieder ausgeschieden wird.

Es ist natürlich auf Grund der vorliegenden Messungen noch nicht festzustellen, wie hoch die gesamte Emanationsmenge sich beläuft, die im Laufe der nächsten Zeit von den Patienten durch die Ausatmungsluft wieder abgeschieden wird. Jedenfalls ist es jedoch von größter Bedeutung zu wissen, daß ganz entschieden ein sehr großer Teil der dargereichten Emanationsmenge schon während der nächsten Minuten wieder exhaliert wird.

Die nachstehend mitgeteilten Untersuchungen machen natürlich keinen Anspruch auf eine quantitativ richtige Bestimmung, was schon daraus hervorgeht, daß bei einem Normalverlust von 8,4 Volt die normale Atemluft eines Patienten, der nie mit Radium beschäftigt war, 22 Volt betrug. Unser weiteres Bestreben ging dahin, die Meßmethode zu verbessern, bzw. ihre Fehler kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurden Versuche im größeren Maßstabe angestellt. Am 27. September betrug der Normalverlust 36 Volt, vermutlich infolge der Restaktivität des vergangenen Tages. Der Patient erhielt 36000 Einheiten per os, 2 Minuten später ergab die Atemluft 252 Volt Spannungsabfall pro Stunde beobachtet in 2 Minuten. Während der nächsten 15 Minuten ließ man den Elektroskopbehälter mit dieser Luft geschlossen stehen und beobachtete 386 Volt. Hierauf wurde die Glocke geöffnet und ohne weitere Zuführung von Atemluft beobachtet. Diese Beobachtung dauerte 6 Minuten

Versuche über Ausatmungsluft nach dem Trinken emanationshaltigen Wassers.

Versuch am 26. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
(Normalverlust)	10 Min.	7,0+7,0=14,0 6,8+7,0=13,8	144,6 143,2	1,4× 6=8,4
Normalatemluft einer nicht mit Radium arbeitenden Person	3 „	6,7+6,4=13,1 6,6+6,3=12,9	139,1 138,0	1,1×20=22
Dieselbe Atemluft 5 Min. nach Einverleibung von 2000 Einheiten in 10 ccm	2 „	6,8+6,8=13,6 6,7+6,7=13,4	141,9 140,8	1,1×30=33
Desgl. sofort nach Einverleibung v. 8000 Einheiten	2 „	9,0+9,0=18,0 7,8+7,8=15,6	168,9 155,4	13,5×30=405
Der Apparat wurde geschlossen, also Spannungsabfall ohne neue Atemluft	3 „	7,8+7,8=15,6 6,6+6,6=13,2	155,4 139,7	15,7×20=314

und ergab 440 Volt Spannungsabfall pro Stunde. Hierauf wurde die Glocke geschlossen und wieder Atemluft eingelassen. Das Resultat war 408 Volt.

Aus diesem Versuch ist zu erkennen, daß zweifellos erhebliche Emanationsmengen exhaliert werden, die bei 36000 Einheiten (2 Minuten nach der Einverleibung) noch während einer halben Stunde den Wert von nahezu 400 Volt ergeben. (Der hohe Normalverlust spielt in diesem Versuch keine Rolle, da es sich um Hunderte von Einheiten handelt.)

Nunmehr wurde die Glocke des Elektroskopes eine Viertelstunde lang gelüftet und genau 45 Minuten nach dem Trinken des Emanationswassers wieder 2 Minuten lang Atemluft durch den Behälter geblasen. Der Spannungsabfall betrug 210 Volt.

Versuch am 27. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
(Normalverlust) Restaktivität vom Tage zuvor	4 Min.	9,2 + 9,0 = 18,2 9,0 + 8,8 = 17,8	170,1 167,7	2,4 × 15 = 36
Atemluft 2 Min. nach Einverleibung v. 36000 Einheiten per os	2 "	9,0 + 8,8 = 17,8 8,3 + 7,9 = 16,2	167,7 159,3	8,4 × 30 = 252
Der mit dieser Luft gefüllte Elektroskopbehälter war geschlossen	15 "	8,2 + 7,7 = 15,9 2,5 + 2,0 = 4,5	157,4 60,8	96,6 × 4 = 386,4
Glocke (Behälter) war jetzt geöffnet ohne Atemluft	6 "	10,3 + 10,0 = 20,3 6,7 + 6,3 = 13,0	182,6 138,6	44 × 10 = 440
Dieselbe Atemluft — Glocke oben wieder geschlossen	2 "	6,7 + 6,3 = 13,0 5,6 + 5,4 = 11,0	138,6 125,0	13,6 × 30 = 408

Die über das Elektroskop gestülpte Glocke wurde $^{1}/_{4}$ Stunde gelüftet.

Versuch am 27. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskop-abfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
(Normalverlust)	2 Min.	12,0 + 12,2 = 24,2 11,8 + 12,0 = 23,8	205,4 203,0	2,4 × 30 = 72
Dieselbe Atemluft — 45 Min. nach dem Trinken der 36000 Einheiten	2 "	11,8 + 12,0 = 23,8 11,2 + 11,5 = 22,7	203,0 196,0	7 × 30 = 210

Diese Versuche lehren, daß man längere Zeit den Atem in die Glocke des Elektroskopes hineingelangen lassen muß, damit ein ungefährer Gleichgewichtszustand im Innern der

Glocke sich einstellt. Sie scheinen ferner schon darauf hinzuweisen, daß die in der Ausatmungsluft nachweisbare Emanationsmenge im Verlauf der Zeit geringer wird. Um diese Abnahme der Emanation festzustellen, wurden weitere Versuche angestellt.

Am 30. September 1908 wurden morgens 9 Uhr 100000 Einheiten in 40 ccm getrunken und 6 Stunden nach der Einverleibung 6 Minuten lang die Ausatmungsluft untersucht. Obgleich die Versuchsperson viel mit Radium arbeitet, wurden nach Abzug des Normalverlustes von 28,8 Volt nur 72,8 Volt Spannungsabfall beobachtet.

Der Versuch läßt deutlich erkennen, wie im Verlauf der Zeit die exhalierte Emanationsmenge geringer wird. Die nächsten 4 Tage hielt sich dieselbe Versuchsperson von jeder Arbeit mit Radium fern und wurde am 3. Oktober einem weiteren Versuch unterzogen. Der Normalverlust betrug 23,6 Volt, die Normalluft, die mit einem Ventilball durch den Apparat 10 Minuten lang hindurchgepreßt wurde, ergab 25,8 Volt. Nunmehr wurde 10 Minuten lang Atemluft hindurchgeblasen, der Spannungsabfall betrug 26,4 Volt. Danach würde die Versuchsperson nunmehr nahezu emanationsfrei gewesen sein. Es wurden von ihr 30000 Einheiten getrunken und 2 Minuten nach der Einverleibung die Atemluft untersucht. Während der ersten 6 Minuten fanden sich 510 Volt, während der nächsten 6 Minuten 449 Volt Spannungsabfall pro Stunde.

Dieser Versuch belehrt uns darüber, daß tatsächlich von 30000 Einheiten, wenn die Atemluft kurz nach der Einverleibung untersucht wird, rund 500 Einheiten nachweisbar sind, die dann aber mit der Zeit ständig abzunehmen scheinen. Die genaueren Gesetze über diese Abnahme sind erst dann festzustellen, wenn unsere Versuchsbedingungen noch besser geklärt und modifiziert erscheinen. Für die vorliegende Arbeit reichten sie jedoch aus, um folgende Ergebnisse festlegen zu können:

1. In der Atemluft der Patienten läßt sich, wenn sie emanationshaltiges Wasser getrunken haben, mit größter Sicherheit die Emanation nachweisen.

2. Die beim Ausatmen nachweisbare Emanationsmenge nimmt mit der Zeit ständig ab.

Von 100000 Einheiten lassen sich 6 Stunden später noch rund 100 Einheiten nachweisen.

3. Die unmittelbar nach dem Trinken exhalierten Emanationsmengen sind als sehr erhebliche anzusehen.

Versuche über Ausatmungsluft.

6 Stunden nachdem 100000 Einheiten in 40 ccm getrunken waren.

Versuch am 30. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig).	Voltabfall pro Stunde
Normalverlust	10 Min.	9,9 + 9,6 = 19,5 9,5 + 9,2 = 18,7	177,9 173,1	4,8 × 6 = 28,8
Ausatmungsluft einer Person, die viel mit Radium arbeitet, und 6 Stunden vorher 100000 Einheiten getrunken hat	6 „	9,5 + 9,2 = 18,7 8,6 + 8,3 = 16,9	173,1 163,0	10,1 × 10 = 101

101 Voltabfall pro Stunde
— 28,8 „ „ „ Normalverbrauch
72,2 Voltabfall pro Stunde.

Ausatmungsluft.

Versuch am 3. Oktober 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeier (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
Normalverlust	15 Min.	12,5 + 12,7 = 25,2 11,9 + 12,3 = 24,2	211,3 205,4	5,9 × 4 = 23,6
Normalluft mit Ventilball im geschlossenen Kreise hindurchgeblasen	10 „	11,8 + 12,2 = 24,0 11,5 + 11,8 = 23,3	204,2 199,9	4,3 × 6 = 25,8
Atem der viel mit Radium arbeitenden Versuchspersonen	10 „	11,6 + 11,2 = 22,8 10,9 + 11,2 = 22,1	196,7 192,3	4,4 × 6 = 26,4
Atemluft 2 Min. nachdem von derselben Person 30000 Einheiten getrunken sind	6 „	11,0 + 11,0 = 22,0 7,1 + 6,3 = 13,4	191,8 140,8	51 × 10 = 510
Desgl.	6 „	7,1 + 6,3 = 13,4 3,8 + 3,6 = 7,4	140,8 95,9	44,9 × 10 = 449

8. Die weiteren Untersuchungen zielten dahin, ob man im Schweiße eines Patienten, der starke Emanationsmengen einverleibt erhalten hatte, Emanation nachzuweisen imstande war:

Der Patient erhielt am 25. September 1908 in 150 ccm Radiogenwasser 125000 Einheiten per os. Er wurde 2 Stunden lang eingewickelt und geriet nach $1^1/_2$ Stunden in starken Schweiß. $^1/_2$ Stunde später wurden 140 ccm Schweiß aus der Gummidecke aufgefangen und sofort der Messung unterworfen. Bei einem Normalverlust von 3 Volt wurde für die 140 ccm Schweiß ein Spannungsabfall von 3 Volt gemessen. Das würde also bedeuten, daß die Messung mit dem Normalverlust identisch ist, oder daß nicht die geringste Menge Emanation im Schweiße des Patienten nachweisbar ist, obwohl 2 Stunden vorher 125000 Einheiten getrunken waren.

Schweißuntersuchung.

Einem Patienten wurden 150 ccm Radiogenwasser = 125000 Einheiten per os einverleibt. $1^1/_2$ Stunden später begann er zu schwitzen, und nach einer weiteren $^1/_2$ Stunde wurden 140 ccm Schweiß aus der Gummihülle direkt im Meßkasten aufgefangen.

Versuch am 25. September 1908.

	Zeitdauer	Elektroskopabfall	Voltzahlen nach Eichtabelle von Günther u. Tegetmeyer (Braunschweig)	Voltabfall pro Stunde
(Normalverlust)	10 Min.	11,3 + 11,5 = 22,8	156,7	0,5 × 6 = 3
		11,2 + 11,5 = 22,7	156,2	
b) 140 ccm Schweiß	10 „	11,3 + 11,2 = 22,5	155,1	0,5 × 6 = 3
		11,2 + 11,2 = 22,4	154,6	

Berücksichtigen wir die Gesamtheit der mitgeteilten Versuche sowie die physikalischen Grundlagen derselben, welche wir in unserer bereits zitierten Arbeit mitgeteilt haben, so können wir die **Ergebnisse** etwa **folgendermaßen zusammenfassen:**

Die Radium-Emanation ist ein Gas, welches von der Lunge sowie vom Magen- und Darmkanal resorbiert werden kann, nicht jedoch, wenigstens unter gewöhnlichen Verhältnissen, von

der Haut aus. Der größte Teil dieses Gases verläßt den Körper wieder durch die Ausatmungsluft in relativ kurzer Zeit. Ein geringerer Teil wird durch Faeces wieder ausgeschieden, sehr wenig kann in Leber und Galle, wahrscheinlich als Restaktivität, deponiert werden.

Solange sich die Emanation im Körper befindet, sendet sie Strahlen aus, welche in den Geweben zur Wirkung gelangen können und vollkommen den Radiumstrahlen selbst äquivalent sind. Sie ist in gewisser Beziehung in Analogie zu setzen zum Sauerstoff der Luft, welcher durch die Lunge in das Blut aufgenommen, zu Oxydationen in den Geweben verwandt wird und wiederum zum größten Teil durch die Lunge zur Ausscheidung gelangt.

Wie groß die Emanationsspannung im Blute werden kann, haben wir noch nicht festgestellt; es wäre aber möglich, wenn auch nicht sehr wahrscheinlich, daß beim Schütteln des Blutes die in ihm vielleicht in den Erythrocyten enthaltene Emanationsmenge nicht frei würde, ebenso wie die Blutgase zum größten Teil darin festgehalten werden. Erst im Vakuum gelingt es bekanntlich, den Rest der Blutgase frei zu machen, und dahingehende Versuche mit Emanation wären noch anzustellen.

Der negative Ausfall der Urinuntersuchungen entspricht durchaus der Gastheorie, da ja auch z. B. Sauerstoff, Kohlensäure usw. im Urin nicht frei (in nennenswerten Mengen) zur Ausscheidung gelangen. Die Resorption und die Retention im Körper, wenigstens für eine gewisse Zeit, müssen wir aus den therapeutischen Resultaten folgern, denn anders ist es, auf Grund der jetzigen Anschauungen wenigstens, nicht zu erklären, daß die Einverleibung der Emanation in vielen Fällen sehr bald darnach zu einer schmerzhaften Reaktion rheumatisch erkrankter Gelenke und überhaupt zu einer therapeutischen Wirkung auf chronisch entzündliche Prozesse führen kann.

Die zahlreichen neueren Publikationen, die im Literaturverzeichnis berücksichtigt sind, weisen so übereinstimmend günstige Heilerfolge auf (zumeist unter Auftreten einer schmerzhaften Reaktion), daß an einer Wirkung der künstlich erzeugten Emanation ebensowenig zu zweifeln ist, wie an den Heilerfolgen Gasteins, Baden-Badens usw.

Das praktisch wichtigste Resultat unserer Arbeit, das durch die empirisch bereits festgestellten kleinsten Resultate gestützt wird, besteht darin, daß wir dem Trinken bzw. einer intensiven Inhalation künstlichen emanationshaltigen Wassers wegen der genauen Dosierbarkeit den Vorzug vor jeder anderen Einverleibungsart geben müssen. Die Wirkung der Bäder in den Badeorten selbst ist sicher mehr darauf zurückzuführen, daß die ganze Luft mit Emanation angereichert ist und durch Inhalation wirksam wird. Will man trotzdem Bäder zur Anwendung bringen, so empfiehlt es sich, wenn man nicht gleichzeitig trinken lassen will, in kleinen Räumen zu baden und sich im Bade kräftig zu bewegen. Diese Anweisung hat natürlich für die Badeorte keine Bedeutung, weil dort die Luft schon von vornherein emanationshaltig ist. Jedenfalls ziehen wir die Inhalationswirkung beim Bade derjenigen Wirkung vor, die darin besteht, daß die Haut direkt beeinflußt wird. Diese direkte Beeinflussung würde im besonderen noch zu prüfen sein, wenn die Wirkungen des Fangos und des Radiogenschlammes auf ihren Gehalt an Radioaktivität zurückzuführen sein sollten.

Wenn wir auch unsere Untersuchungen über die Exhalation der Emanation noch nicht für abgeschlossen halten, so können die hier angegebenen Grundlagen doch dazu dienen, weitere Untersuchungen zu fördern und das Interesse der Forscher auf diese Frage zu richten.

Literaturverzeichnis

(vgl. auch S. 124).

Aschoff, Die Radioaktivität der Kreuznacher Solquellen. Kreuznach 1908.

Bartels, Über die Behandlung der eitrigen Kiefer- und Stirnhöhlenkatarrhe mit Radiogenwasser. Zeitschr. f. neuere physik. Med. 1907, Nr. 4.

Bergell, Über die Gewinnung der Radiumemanation in dosierbarer Form. Arbeiten a. d. Pathol. Inst. zu Berlin.

Bergell und Bickel, Exper. Unters. über die physiologische Bedeutung der Radioaktivität der Mineralwässer. Wiesbad. Kongreß 1906.

Berg und Welker, Journ. of Biolog. Chem. 1, 370, 1906.

Bouchard, Curie und Balthazerd, Wirkungen der Emanation. Compt. rend. 5, 6, 1906.

Braunstein. Über die Bedeutung d. Radiumemanation und ihre Anwendung. Wiesbadener Kongreß 1906.

Dautwitz, Beitrag z. biolog. Wirkung der radioakt. Uranpecherzrückstände aus St. Joachimsthal in Böhmen. Zeitschr. f. Heilk. 27, Heft 2, 1906.

Davidsohn, Radiumemanation als Heilfaktor. Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 38.

Elster und Geitel, Über Einrichtung und Behandlung d. Apparate zur Bestimmung der Radioaktivität von Bodenproben u. Quellsedimenten. Zeitschr. f. Instrumentenk., Juli 1904.

Engler, Beiträge zur Kenntnis der Radioaktivität der Mineralquellen. Karlsruhe 1906.

Engler und Sieveking, Die Radioaktivität der Mineralquellen. Chem. Zeitg. 1907, 60.

Engler und Sieveking, Radium und Radioaktivität. Bäderalmanach, Berlin 1907.

Engler und Sieveking, Zur Kenntnis der Radioaktivität der Mineralquellen und deren Sedimente. Zeitschr. f. anorgan. Chem. 53.

Gottlieb, Die Wirkung u. Anwendung der Joachimsthaler radioaktiven Grubenwasser. Centralbl. f. d. ges. Ther. 1907, 4.

Jakobj, Deutsches Bäderbuch, Berlin 1907, 25.

Jentzsch, Die Radioaktivität der Kissinger Heilquellen. Physikal. Zeitschr. 8, Nr. 24, 1907.

Kalmann, Ein Beitrag zur Kenntnis der Radiumwirkung von Heilquellen. Wiener klin. Wochenschr. 1905, 22.

Kalmette, Trinkversuche mit dem radioaktiven Gasteiner Trinkwasser. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 11, 4.

Klug, Die Radioaktivität der Therme von Johannisbad. Illustr. Badebl. 1908 (20. Aug.), Nr. 20.

Kohlrausch, Untersuchung über die Radioaktivität von Quellen, Moorwässern usw. in Norwegen. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 12, 2, 1908.

Kohlrausch und Nagelschmidt, Die physikalischen Grundlagen der Emanationstherapie. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 12, Heft 8, 9 u. 10, 1908.

Kraus, Deutsches Bäderbuch, Berlin 1907, 87.

Krauß, Kongreß f. inn. Med., Wiesbaden 1907.

Laqueur, Über künstliche radiumemanationshaltige Bäder. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther., Mai 1907.

Löwenthal, Über die Wirkung der Radiumemanation auf den menschlichen Körper. 1. Mitt. Berl. klin. Wochenschr. 1906, 46.

Löwenthal, Über die Wirkung der Radiumemanation auf den menschlichen Körper. 2. Mitt. Berl. klin. Wochenschr. 1907, 35.

Löwenthal, Über die Wirkung der Radiumemanation auf Neubildungen. Berl. klin. Wochenschr. 1908, 3.

Löwenthal, Über die Wertschätzung von Heilquellen auf Grund ihrer Radioaktivität. Zeitschr. f. Balneologie 1908, Nr. 3.

Mache und Meyer, Über die Radioaktivität österr. Thermen. Physikal. Zeitschr., 6. Jahrg., Nr. 21.

Nagelschmidt, Therapeutische Verwendung von Radiumemanation. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 11.

Neuberg, Chemisches zur Carcinomfrage I. Über die Wirkungsweise des Radiums bei Carcinom. Zeitschr. f. Krebsforschung 2, 171, 1904 u. Verhandl. d. Deutsch. Pathol. Ges. 1904, 157.

Rheinboldt, Zur bactericiden Wirkung d. Mineralquellen. Pathol. Institut zu Berlin.

Riedel, Untersuchungen über die künstliche Radiumemanation. Med. Klinik 1908, 12.

Saake, Münch. med. Wochenschr. 1904, 1.

Schüler, Die moderne Lichtbehandlung. Homöopath. Rundschau 1908, Nr. 6.

Silbergleit, Über den Einfluß radiumemanationshaltiger Bäder auf den Gaswechsel des Menschen. Berl. klin. Wochenschr. 1908, 1.

Sommer, Radium und Radioaktivität. München 1906.

Sommer, Über Radium und die Radioaktivität schweizerischer Heilquellen. Jahrb. über Leistungen u. Fortschritte auf d. Gebiete d. physikal. Med. Leipzig 1908.

Sommer, Beitrag zur Kenntnis der Radioaktivität und ihrer therapeutischen Wirkungen. Annal. d. schweizerischen balneologischen Ges. 1908.

Sommer, Über Emanation und Emanationstherapie. München 1908.

Stern, Über Radiumemanation. Ung. Zeitschr. Gyogyászat 1908, Nr. 36.

Strasser und Selka, Versuche mit Radiumemanation. Med. Klinik 1908, Nr. 22.

Sury, Über die Radioaktivität einiger schweizerischer Mineralquellen. Inaug.-Diss., Freiburg (Schweiz) 1906.

Therap. Mitteilungen der „Apotheke zur Austria", Wien. Zur therap. Verwertung radioaktiver Körper. 4, Nr. 1, 1908.

Zickel, Wirksame Badekuren. Med. Klinik 1908, Nr. 34.

Über die Anteilnahme der Zymase am Atmungsprozesse der Samenpflanzen.

Von

S. Kostytschew.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität in St. Petersburg.)

[Eingegangen am 24. November 1908.]

Bis auf die letzte Zeit hin erstreckte sich das Studium der Pflanzenatmung nur auf die Einwirkung der verschiedenen Faktoren auf den Gaswechsel; hinsichtlich des Chemismus der physiologischen Verbrennung wissen wir dagegen nichts Bestimmtes. Es wird übereinstimmend anerkannt, daß der Atmungsprozeß ein höchst komplizierter Vorgang ist, in dem u. a. oxydierende Enzyme beteiligt sind; da aber letztere allem Anscheine nach nicht imstande sind, eine direkte Verbrennung des Atmungsmaterials zu bewirken,[1]) so muß vorausgesetzt werden, daß die Moleküle der zu verbrennenden organischen Verbindungen zunächst durch vorbereitende Prozesse gelockert bzw. gespalten werden. In dieser Hinsicht kommt vor allem die anaerobe Atmung in Betracht. Früher wurde zwar bei der Beurteilung der Rolle der anaeroben Atmung die Ansicht Diakonows[2]) als ausschlaggebend betrachtet, d. h. der genannte Prozeß als ein von der Sauerstoffatmung unabhängiger Lebensvorgang aufgefaßt; gegenwärtig wird jedoch der Zusammenhang der anaeroben mit der normalen Atmung kaum mehr bezweifelt.

---

[1]) Bertrand, Compt. rend. **122**, 1132, 1896. — Portier, Les oxydases dans la série animale. Leur rôle physiologique, Paris 1897.

[2]) Diakonow, Archives slaves de biologie **1**, 531, 1886; **3**, **6**, 1887; **4**, 31 und 121, 1887; Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **4**, 1 und 411, 1886.

Ist nun die anaerobe Atmung eine primäre Phase der Sauerstoffatmung, so könnte gewiß die Aufklärung der die anaerobe CO_2-Abscheidung bewirkenden Stoffumwandlungen wichtige Anhaltspunkte für das Studium des Wesens der physiologischen Verbrennung bieten. Eine direkte Erforschung des Chemismus der anaeroben Atmung wurde zuerst von Godlewski und Polzeniusz[1]) eingeleitet; die genannten Forscher haben festgestellt, daß die anaerobe Atmung der ungekeimten Erbsensamen mit der typischen Alkoholgärung in allen wesentlichen Punkten übereinstimmt. Bald darauf hat Godlewski[2]) dargetan, daß die anaerobe Atmung der Lupinensamen ebenfalls eine echte Alkoholgärung ist. Dasselbe Resultat erhielten Stoklasa[3]) bei der Zuckerrübe und Nabokich[4]) mit den Samen verschiedener Kulturpflanzen. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß die anaerobe Atmung in allen den Fällen mit der Alkoholgärung identisch ist, wo Kohlenhydrate veratmet werden.[5])

Ist nun die Zymase der Samenpflanzen mit derjenigen der Hefe vollkommen identisch, so muß sie auch bei Sauerstoffzutritt fortwährend tätig bleiben; in den meisten Fällen findet aber in Samenpflanzen keine nennenswerte Alkoholbildung bei Sauerstoffzutritt statt. Die Aufklärung dieser sowohl interessanten als wichtigen Frage ist für das Studium des Wesens der Atmung von großer Bedeutung, doch erschien eine derartige experimentelle Untersuchung noch vor kurzem als zu schwierig, und es wurden nur verschiedene Hypothesen aufgestellt, die ich in möglichster Kürze wiedergeben will.

Vom theoretischen Standpunkte aus kommen bezüglich der Rolle der Zymase im Atmungsprozesse folgende Möglichkeiten in Betracht.

---

[1]) Godlewski u. Polzeniusz, Bulletin intern. de l'Acad. des sciences de Cracovie, **1901**, 227.

[2]) Godlewski, ebenda **1904**, 115.

[3]) Stoklasa, Jelínek u. Vítek, Beiträge z. chem. Physiol. und Pathol. **3**, 460, 1903.

[4]) Nabokich, Journ. f. experiment. Landwirtschaft **1903**, 696, **1904**, 305 (russisch).

[5]) Wenn anderweitige Stoffe als Atmungsmaterial dienen, so findet zuweilen keine Alkoholbildung bei Sauerstoffabschluß statt, wie ich es neuerdings an Agaricus campestris dargetan habe (Botan. Berichte **25**, 188, 1907 und **26**a, 167, 1908).

I. Die Zymase der Samenpflanzen ist mit derjenigen der Hefe nicht vollkommen identisch, indem erstere nur bei Sauerstoffabschluß tätig ist. Diese Ansicht kann man auf Grund der neuerdings bekannt gewordenen Tatsachen kaum mehr aufrechthalten. So haben z. B. Palladin und ich[1]) nachgewiesen, daß die Zymase erfrorener Erbsensamen bei vollem Luftzutritt und bei Abwesenheit der Mikroben arbeitet.

II. Obschon die Zymase der Samenpflanzen bei vollem Sauerstoffzutritte tätig ist, hat dennoch die Alkoholgärung der Samenpflanzen mit der Sauerstoffatmung nichts zu tun. Diese Ansicht wurde von Polowzow[2]) vertreten. Der genannte Forscher hat gefunden, daß Erbsen- und Maissamen Alkoholbildung bei Sauerstoffzutritt bewirken. Die aerobe Alkoholbildung in Samenpflanzen wurde auch von Berthelot[3]), Mazé[4]) und Devaux[5]) beobachtet. Es ist jedoch einleuchtend, daß die Unabhängigkeit der Sauerstoffatmung von der Alkoholgärung durch die qualitativen Alkoholbestimmungen der genannten Forscher nicht nachgewiesen worden war. Wäre die Alkoholgärung der Samenpflanzen ein Prozeß sui generis, so müßten bei Sauerstoffzutritt und Sauerstoffabschluß gleiche Alkoholmengen gebildet werden; aus meinen weiter folgenden Versuchen wird jedoch ersichtlich werden, daß dies in Wirklichkeit nicht der Fall ist; die geringen bei Sauerstoffzutritt auftretenden Alkoholmengen deuten vielmehr nur darauf hin, daß die Oxydationstätigkeit des Organismus mit der Spaltung des Zuckers durch Zymase nicht immer gleichen Schritt hält; infolgedessen findet beim Überwiegen der primären Prozesse eine Anhäufung nicht oxydierter Spaltungsprodukte des Zuckers statt.

III. Die Alkoholgärung der Samenpflanzen ist die Anfangsstufe der Sauerstoffatmung; der durch Zymase gebildete Alkohol wird dann durch den Eingriff oxydierender Enzyme vollständig

---

[1]) Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 214, 1906.

[2]) Polowzow, Mémoires de l'Académie des sciences de St. Petersbourg, sér. VIII, 12, Nr. 7, 1901 (russisch).

[3]) Berthelot, Compt. rend. 128, 1366, 1899.

[4]) Mazé ebenda 128, 1608, 1899.

[5]) Devaux, Mémoires de la société des sciences physiques et naturelles, Bordeaux 1899, 15 juin.

verbrannt. Gegen diese Voraussetzung wendet Takahashi[1]) mit Recht ein, daß Alkohol schwerer oxydiert wird als Zucker; eine endgültige Lösung der Frage von der Rolle des Alkohols im Atmungsprozesse kann allerdings nur auf experimentellem Wege erfolgen.

IV. Die Alkoholgärung der Samenpflanzen ist die Anfangsstufe der Sauerstoffatmung; bei Luftzutritt wird aber unter normalen Umständen auch vorübergehend kein Alkohol gebildet; es werden nur die intermediären Produkte der Alkoholgärung bei der Atmung oxydiert. Dies ist die Ansicht Godlewskis[2]). Dieser Verfasser schreibt: „Ich denke mir den Zusammenhang der intramolekularen mit der normalen Atmung in der Weise, daß durch Zymasewirkung der Zusammenhang zwischen den Atomgruppen der Glykosemoleküle erschüttert wird, indem in denselben bestimmte Umlagerungen der Atomgruppen, welche zur Alkohol- und CO_2-Bildung führen, eintreten. Bevor aber noch diese Atomgruppen zum Alkohol zusammentreffen, werden sie teils durch Sauerstoffwirkung oxydiert, teils zur Bildung von neuen Baustoffen bei dem Wachstum der Zelle verwertet."

Zugunsten dieser Anschauung spricht die Tatsache, daß Zymasegärung den neueren Anschauungen nach[3]) ein komplizierter Prozeß ist, und Zwischenphasen der Alkoholgärung müssen wohl vorausgesetzt werden.

V. Die Alkoholgärung der Samenpflanzen bildet das Anfangsstadium des Atmungsprozesses; der bei der Gärung gebildete Alkohol wird aber ausschließlich zu den Zwecken des Bauwechsels verwendet. Diese Anschauung hat Mazé[4]) ausführlich entwickelt. Mazé behauptet, daß der bei Sauerstoffzutritt gebildete Alkohol nicht vollständig verbrannt, sondern nur zu CH_3. COH oxydiert und für die Wachstumszwecke verbraucht

---

[1]) Takahashi, Bulletin of the College of Agricult., Tokyo; 5, 243, 1902/1903.

[2]) Godlewski, Bulletin intern. de l'Acad. des scienes de Cracovie 1904, 115.

[3]) Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 37, 417, 1904; 38, 620, 1905. — Schade, Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 1, 1906. — Nef, Annal. d. Chem. 335, 245, 1904. — W. Löb, Landwirtschaftl. Jahrbücher 35, 541, 1906. — Ehrlich, diese Zeitschr. 2, 52, 1907. — Wohl, diese Zeitschr. 5, 45, 1907.

[4]) Mazé, Annales de l'Inst. Pasteur 16, 195, 346, 433, 1902.

wird. Der genannte Verfasser betont hierbei ausdrücklich, daß Bauwechsel und Betriebswechsel im lebenden Organismus miteinander untrennbar verknüpft sind, denn es wird im Atmungsprozesse nicht nur Freiwerden der Energie bewirkt, sondern auch Alkohol erzeugt, ein Baumaterial für Neubildungen. Diese Voraussetzungen sind vom Verfasser durch Experimente erläutert worden; es sind aber zum größten Teil indirekte Versuche, die nur den Zweck verfolgen, nachzuweisen, daß die bei den verschiedenen vitalen Stoffumwandlungen stattfindenden Vorgänge auf Grund der Hypothese des Verfassers in befriedigender Weise erklärlich sind. So muß z. B. die Gewichtszunahme der Keimpflanzen auf Grund der Mazéschen Hypothese etwa die Hälfte des Gewichtes der verbrauchten Reservekohlenhydrate betragen, denn Zuckermoleküle sollen zunächst durch Zymase zu Alkohol und Kohlensäure gespalten werden; von diesen beiden Spaltungsprodukten wird aber nur Alkohol für Neubildungen verwertet, der etwa die Hälfte des ursprünglichen Materials ausmacht. Diese Voraussetzung hat sich tatsächlich bestätigt. So wertvoll diese Ergebnisse bei dem Studium des Keimungsprozesses auch erscheinen können, sind sie dennoch für den strengen Nachweis der Hypothese von Mazé keineswegs ausreichend; dies gibt der Verfasser selbst gerne zu, und ich brauche hiernach nicht auf diesen Gegenstand näher einzugehen. Folgender Versuch Mazés ist aber als ein direkter Versuch anzusehen. Mazé hat gefunden, daß die vom Embryo abgetrennten Samenlappen von Pisum sativum Alkohol bei Sauerstoffzutritt bilden, während in den intakten Erbsensamen keine Alkoholbildung zu verzeichnen war. Dieses Resultat scheint tatsächlich nur in der Weise gedeutet werden zu können, daß Alkoholverbrauch ausschließlich in intensiv wachsenden Pflanzenteilen erfolgt, wo Neubildungen stattfinden. Späterhin haben jedoch Mazé und Perrier[1]) den Nährwert des Äthylalkohols für Samenpflanzen durch direkte Kulturversuche geprüft, die ein negatives Resultat ergaben. Es wurden Wasserkulturen von Zea Mays auf verschiedenen Nährlösungen gezogen. Die ohne Zusatz organischer Stoffe kultivierten Pflanzen dienten als Kontrollexemplare, mit denen andere, auf

[1]) Mazé und Perrier, Annales de l'Inst. Pasteur 18, 721, 1904.

Glukose, Saccharose, Glycerin, Äthylalkohol und Methylalkohol kultivierten Pflanzen verglichen wurden. Es ergab sich, daß das Wachstum von Zea Mays durch Zucker befördert, durch Äthylalkohol aber bedeutend unterdrückt wird. Selbst auf 0,5 % Äthylalkohollösungen wurden die Pflanzen schnell vergiftet, während sie auf 0,5 % Methylalkohollösungen noch gedeihen konnten. Äthylalkohol erwies sich also giftiger als Methylalkohol. Auch in denjenigen vereinzelten Fällen, wo Äthylalkohol nicht vergiftend wirkt, findet keine Assimilation des genannten Stoffes statt. So wirken z. B. selbst 10 % Alkohollösungen nicht schädlich auf frisch abgeschnittene Fliederzweige; trotzdem wird der größte Teil des aufgenommenen Alkohols durch Transpiration wieder abgegeben; die geringe Menge des in den Zweigen zurückgehaltenen Alkohols wird ausschließlich zur Esterbildung verbraucht; es findet also keine Oxydation des Alkohols statt. Diese Resultate sprechen also gegen die Annahme einer Oxydation des Äthylalkohols im Atmungsprozesse der Samenpflanzen; daß aber Alkohol als Nährmaterial für niedere Organismen dienen kann, ist ja längst bekannt; auch Mazé[1]) hat den Schimmelpilz Eurotiopsis Gayoni auf Alkohollösungen mit gutem Erfolg kultiviert. Es darf allerdings nicht außer acht gelassen werden, daß Schimmelpilze mit verschiedenartigsten organischen Stoffen ernährt werden können, und zwar auch mit solchen, die für höhere Organismen nicht nur keinen Nährwert haben, sondern auch geradezu giftig sind.

Aus dieser Zusammenfassung ist ersichtlich, daß das Wesen der physiologischen Zuckerverbrennung bis auf die letzte Zeit hin nur äußerst lückenhaft untersucht worden war. Bei dem heutigen Zustande der Lehre von der Pflanzenatmung scheint aber eine direkte Erforschung eines so wichtigen Gegenstandes wohl möglich zu sein, obschon es von vornherein leicht begreiflich ist, daß eine derartige Untersuchung auf manche ernste Schwierigkeiten stoßen muß und folglich nur durch gemeinsame Anstrengungen mehrerer Forscher mit gutem Erfolg ausführbar ist. Wenn ich also die von mir erhaltenen nicht zahlreichen und oft leider negativen Resultate mitzuteilen wage, so ge-

---

[1]) Mazé, l. c. 16, 346, 1902.

schieht dies hauptsächlich aus dem Grunde, daß ich es für höchst wichtig halte, eine regelrechte experimentelle Erforschung der anfänglichen Phasen der Pflanzenatmung einzuleiten. So unzureichend und lückenhaft meine vorliegende Arbeit auch sein mag, könnte sie doch hoffentlich die nachfolgenden erfolgreicheren Untersuchungen in mancher Beziehung erleichtern.

Vor allem wäre es von Interesse, festzustellen, ob die Alkoholbildung in Samenpflanzen tatsächlich bei vollem Sauerstoffzutritt stattfinden kann. Stellt man die wenigen zurzeit bekannten Tatsachen betreffs dieser Frage zusammen, so fällt es sofort auf, daß die Angaben verschiedener Forscher miteinander nicht übereinstimmen. So hat z. B. Polowzow[1]) gefunden, daß Erbsen- und Maissamen eine regelmäßige Alkoholgärung bei vollem Luftzutritt bewirken; dagegen wendete jedoch Godlewski[2]) ein, daß die Versuche von Polowzow nicht bei tadelloser Aeration ausgeführt worden waren. Die Samen wurden bis auf die Hälfte in Wasser bzw. in Zuckerlösung getaucht, was bei der außerordentlichen Empfindlichkeit der Samen gegen Feuchtigkeit Godlewskis Meinung nach genügte, um anaerobe Atmung hervorzurufen. Auch Godlewski selbst hatte früher[3]) hohe Werte von $\frac{CO_2}{O_2}$ in den anfänglichen Stadien der Samenkeimung beobachtet; dieses Resultat führte der Verfasser bereits damals auf unzureichenden Sauerstoffzutritt zurück. Mazé[4]) vermochte allem Anschein nach keine Alkoholbildung in unversehrten Erbsensamen zu beobachten; die vom Embryo abgetrennten Samenlappen von Pisum sativum bildeten aber in Mazéschen Versuchen Alkohol bei vollem Luftzutritt.

Die widersprechenden Resultate von Polowzow und Mazé haben mich veranlaßt, die Frage der Alkoholgärung der Samenpflanzen bei Luftzutritt wiederum in Angriff zu nehmen. Als ein für derartige Untersuchungen besonders geeignetes Objekt sind gewiß Erbsensamen anzusehen, die sich bei Sauer-

---

[1]) Polowzow, Mémoires de l'Acad. des sciences de St. Petersbourg, sér. VIII, 12, Nr. 7, 1901 (russisch).

[2]) Godlewski, Bulletin intern. de l'Acad. des sciences de Cracovie 1904, 115.

[3]) Godlewski, Jahrbücher f. wissensch. Botanik 13, 524, 1882.

[4]) Mazé, Annales de l'Inst. Pasteur 16, 195, 1902.

stoffabschluß als typische Gärungserreger verhalten; auch wurde das Wesen der Erbsensamengärung durch Godlewski und Polzeniusz[1]) bereits eingehend untersucht. Die genannten Forscher haben folgende höchst interessante Tatsachen festgestellt.

I. Das Verhältnis Kohlendioxyd: Alkohol bei der anaeroben Alkoholgärung der Erbsensamen entspricht der Gleichung der Zymasegärung.

II. Die Alkoholgärung der in Wasser versenkten und sterilisierten Erbsensamen dauert sechs Wochen, und zwar ist erst nach Ablauf von drei Wochen eine Abnahme der Gärungsenergie zu verzeichnen.

III. Bei der anaeroben Alkoholgärung der Erbsensamen werden etwa 40 % der Trockensubstanz der Samen zu Alkohol und CO_2 vergoren.

IV. Die in Zuckerlösungen versenkten Samen vergären außerdem beträchtliche Mengen des gelösten Zuckers.

Im Anschluß daran haben Palladin und ich[2]) nachgewiesen, daß die Zymase der durch Erfrieren abgetöteten Erbsensamen bei vollem Luftzutritt tätig ist. Aus all diesen Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Alkoholgärung der Erbsensamen sich ihrem Wesen nach von derjenigen der Hefe nicht unterscheidet, allerdings bei Sauerstoffabschluß. In den nunmehr folgenden Versuchen habe ich die Alkoholbilanz der Erbsensamen bei Luftzutritt untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die Samen 24 Stunden lang im Wasser eingeweicht. Ein Teil der Samen wurde dann mit destilliertem Wasser versetzt und direkt zu der Alkoholbestimmung verwendet. (Bei dem Einweichen der Erbsensamen im Wasser bildet sich immer eine gewisse Menge des Alkohols.) Gleichzeitig wurde ein anderer Teil der Samen in geräumige U-Röhren hineingetan; durch die Röhren wurde alsdann ein lebhafter Strom der mit Wasserdampf gesättigten Luft geleitet. Um einer Verdunstung des Alkohols vorzubeugen, wurde zwischen dem Rezipiente und dem Regulator des Gasstromes ein Kühlapparat eingeschaltet.

[1]) Godlewski und Polzeniusz, Bulletin intern. de l'Acad. des sciences de Cracovie 1901, 227.

[2]) Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 214, 1906.

Letzterer bestand aus zwei miteinander verbundenen und mit Wasser beschickten Waschflaschen, die mit langen aufwärts gerichteten und schlangenförmig gewundenen Ableitungsröhren versetzt waren. Die ganze Einrichtung wurde in schmelzendes Eis versenkt. Vorversuche ergaben, daß der soeben geschilderte Kühler auch bei sehr lebhafter Gasdurchleitung die etwa vorhandenen flüchtigen Substanzen total zurückhält. Eine nennenswerte Alkoholverdunstung aus dem Samenrezipiente findet übrigens nur bei Durchleitung nicht ganz feuchter Luft statt; wenn man aber die mit Wasserdampf vollkommen gesättigte Luft durchsaugt, wie es in meinen Versuchen immer der Fall war, so geht keine oder eventuell eine nur ganz geringe Alkoholmenge in den Kühlapparat über. Die Alkoholbestimmungen wurden folgendermaßen ausgeführt: die Samen wurden in einen geräumigen Rundkolben hineingetan, mit beträchtlicher Menge destillierten Wassers versetzt und einer Destillation unterworfen, die alsdann mehrmals wiederholt wurde. Der Alkoholgehalt des letzten Destillates wurde mit Hilfe eines genauen Pyknometers ermittelt; die Alkoholbestimmungen sind bis auf etwa 25 mg genau anzusehen. Um einem übermäßigen Schäumen der mit den Samen versetzten Flüssigkeit vorzubeugen, setzte ich in einzelnen Versuchen etwas Tannin hinzu; in diesem Falle muß aber die darauffolgende zweite Destillation unter Zusatz von etwas Bleihydroxyd ausgeführt werden. Zuweilen erhält man trübe Destillate, dieser Übelstand läßt sich aber dadurch beseitigen, daß man bei der zweiten Destillation den mit Bleihydroxyd versetzten Destillationskolben schief stellt, wie etwa bei einer Destillation unter Wasserdampfdurchleitung. Auch mittels Filtration durch ein trockenes Filter erhält man blanke Destillate. Die Bestimmungen der vom Versuchsmaterial produzierten Kohlensäure wurden mit Hilfe der Geißlerschen Apparate ausgeführt; von dem Geißlerschen Apparate wurden die mit neutralem Chlorcalcium und mit konzentrierter Schwefelsäure beschickten Trockengefäße eingeschaltet; die den Rezipient passierende Luft wurde zuvor durch Natronkalk von Kohlensäure befreit. Die Kohlensäurebestimmungen im Geißlerschen Apparate fallen bis auf Bruchteile eines Milligramms genau aus. Der Luftstrom wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe hergestellt; von der Pumpe wurde ein Palladin-

scher Quecksilberregulator angebracht; zwischen dem Geißlerschen Apparate und dem Regulator schaltete ich eine H_2SO_4-Waschflasche ein. Für die Herstellung des Wasserstoffstromes bediente ich mich des Bardelebenschen Apparates.

Von einer aseptischen Versuchsanstellung wurde Abstand genommen, da dieselbe bei einer so großen Samenmenge, wie sie für meine kurzdauernden Versuche erforderlich war, mit gutem Erfolg nicht durchzuführen ist. Mazé und Perrier[1]) betonen ausdrücklich, daß die Behandlung mit Sublimatlösung und anderen bakterientötenden Flüssigkeiten ein Sterilbleiben der Samen nur dadurch bewirkt, daß die der Samenschale anhaftenden Mikroorganismen zum größten Teil abgewaschen werden; die Vermehrung der wenigen an der Schale gebliebenen Bakterien wird aber durch die der Schale anhaftenden Spuren der giftigen Substanz gehemmt.[2]) Was nun die eventuell unter der Schale befindlichen Bakterien anbelangt, so werden diese durch giftige Substanzen so gut wie gar nicht angegriffen. Wenn in den Versuchen von Godlewski und Polzeniusz[3]) eine einwandfreie Auslese der wenigen zu je einem Versuche benutzten Samen nicht immer gelang, so ist es mehr als wahrscheinlich, daß, wo Hunderte von Samen zu je einem Versuche verwendet werden, kein einziger Versuch unter vollkommen sterilen Verhältnissen ausgeführt werden kann. Im Laufe meiner Arbeit habe ich mich vergewissert, daß obige Ansicht Mazés vollkommen richtig ist. Sehr oft habe ich an den in unversehrtem Zustande tadellos erscheinenden Samen nach dem Abtrennen der Schale mehrere von Bakterien angegriffene Punkte entdeckt, und zwar nicht selten an den inneren aneinander liegenden Flächen der Samenlappen. Durch Behandlung der unversehrten Samen mit Sublimatlösung wird die Entwicklung der unter der Schale befindlichen Bakterien tatsächlich gar nicht gehemmt. Diese Erfahrungen beweisen, daß

---

[1]) Mazé et Perrier, Annales de l'Inst. Pasteur **18**, 724, 1904.

[2]) Bereits früher hat schon Geppert (Berl. klin. Wochenschr. **36**, 1889) nachgewiesen, daß durch dauernde Behandlung mit Sublimat die Sporen einiger Bakterien nicht getötet werden und sich nach Entfernung des Sublimats als keimfähig erweisen.

[3]) Godlewski und Polzeniusz, Bulletin de l'Acad. des sciences de Cracovie **1902**, 227.

bei Anwendung sehr beträchtlicher Samenmengen die „aseptische" Versuchsanstellung nichts anderes als eine Selbsttäuschung gewesen wäre. Ich habe mich also damit begnügt, daß ich die unversehrten Samen nur einmal mit Sublimatlösung behandelte, gut auswusch und das zum Einweichen der Samen dienende Wasser mehrmals durch frisches ersetzte. Bei dem Beginn je eines Versuches war das Wasser immer vollkommen klar; die Samen wurden noch einmal abgewaschen, mit Fließpapier abgetrocknet, dann gewogen und zu den Versuchszwecken verwendet. Bei der kurzen Dauer der Versuche konnte hierbei von einer nennenswerten Entwicklung der Bakterien keine Rede sein, zumal da die Samen während des Versuches in eine Flüssigkeit nicht versenkt wurden. In denjenigen Fällen, wo abgeschälte Samen zu den Versuchen benutzt worden waren, war selbstverständlich eine einwandfreie Auslese der Samen wohl möglich; vollkommen gesunde abgeschälte Samen wurden noch einmal abgewaschen, mit Fließpapier abgetrocknet, gewogen und zu den Versuchszwecken verwendet. Dasselbe Verfahren wendete ich in den mit Weizenkeimen ausgeführten Versuchen an, wobei aber selbstverständlich die Behandlung mit Sublimat ausgeschlossen war; da aber das Einweichen der Keime im Wasser höchstens $^1/_2$ bis 3 Stunden in Anspruch nahm und sämtliche Versuche ebenfalls sehr kurzdauernd waren, so war auch hier eine nennenswerte Verunreinigung des Versuchsmaterials nicht möglich.

Versuch 1.

Erbsensamen wurden im Verlaufe von 24 Stunden im Wasser eingeweicht und dann in zwei gleiche Portionen zu je 500 Samen geteilt. Die Kontrollportion (372 g) wurde sofort zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion (371 g) wurde in zwei großen U-Röhren locker verteilt; durch die Röhren wurde 5 Stunden lang lebhafter Luftstrom geleitet, wonach die Samen und der mit dem Spülwasser der U-Röhren vereinigte Inhalt des Kühlapparates zu den Alkoholbestimmungen getrennt verwendet wurden. Die Alkoholbestimmungen ergaben folgende Resultate:

A. Kontrollportion $C_2H_5OH = 108{,}0$ mg
B. Versuchsportion. C_2H_5OH in den Samen $= 158{,}2$ mg
C_2H_5OH im Kühlapparate $= 0{,}0$ „

Es hat sich also in diesem Versuche bei durchaus tadelloser Aeration eine geringe (50 mg) Alkoholmenge gebildet. Es ist jedoch einleuchtend.

daß in derselben Zeit eine bedeutend größere CO_2-Menge produziert worden war. Folgender Vertuch zeigt tatsächlich, daß das Verhältnis $CO_2 : C_2H_5OH$ der Erbsensamen bei Luftzutritt der Gleichung der Alkoholgärung nicht entspricht.

Versuch 2.

Erbsensamen wurden 24 Stunden in Wasser eingeweicht, und dann in zwei gleiche Portionen zu je 550 Samen geteilt. Die Kontrollportion (400 g) wurde sofort zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion (395 g) wurde in großen U-Röhren locker verteilt; durch die Röhren wurde 8 Stunden lang CO_2-freie und mit Wasserdampf gesättigte Luft geleitet. Hinter dem Kühlapparate befanden sich die Trockengefäße, der Geißlersche Apparat, die H_2SO_4-Waschflasche und der Quecksilberregulator. Der Geißlersche Apparat wurde erst nach einstündiger Luftdurchleitung eingeschaltet.

A. Kontrollportion $C_2H_5OH = 173{,}2$ mg
B. Versuchsportion $CO_2 = 316{,}5$ mg

C_2H_5OH in den Samen $= 201{,}5$ mg
C_2H_5OH im Kühlapparate $=$ 9,0 „ (Spur)
Summe: 210,5 mg

Es wurde also gebildet in 8 Stunden:

$$CO_2 = 316{,}5 \text{ mg}, \ C_2H_5OH = 37{,}3 \text{ mg}$$
$$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 11{,}8$$

Es liegt auf der Hand, daß die Alkoholproduktion der Samen bei Luftzutritt bedeutend geringer ist als bei Luftabschluß, da im letzteren Falle, den Ergebnissen von Godlewski und Polzeniusz[1]) zufolge, gleiche Mengen des Alkohols und der Kohlensäure gebildet werden; bei Luftabschluß ist aber die CO^2-Produktion der Erbsensamen mindestens ebenso ausgiebig wie bei Luftzutritt (siehe weiter folgende Versuche). Es ist also ersichtlich, daß die Alkoholproduktion der Erbsensamen durch Luftzutritt sehr stark herabgesetzt wird. Obige quantitative Bestimmungen des bei Luftzutritt gebildeten Alkohols beweisen, daß, wenn auch die Beobachtung Polowzows[2]) bezüglich der Alkoholbildung in Erbsensamen bei vollem Luftzutritt richtig ist, so irrte sich doch der genannte Forscher als er vermutete, daß die Alkoholproduktion der Erbsensamen eine vom Luftsauerstoff vollkommen unabhängige Erscheinung sei: durch Sauerstoffzutritt wird die Alkoholproduktion der Erbsensamen stark gehemmt. Es liegt die Annahme nahe, daß die unbedeutenden bei Luftzutritt gebildeten Alkoholmengen davon herrühren, daß die Oxydationsvorgänge in ungekeimten Samen sehr träge verlaufen. Was ist die Ursache davon? Wird die vitale Oxydation durch Mangel an oxydierenden Faktoren, oder durch äußere Umstände verlangsamt? Vor allem fällt es auf, daß die derbe Samenschale den Sauerstoffzutritt bedeutend einschränken kann.

[1]) Godlewski und Polzeniusz l. c.
[2]) Polowzow l. c.

Dieser Gedanke bewog mich, einige Versuche mit abgeschälten Samen auszuführen.

Versuch 3.

Erbsensamen wurde 24 Stunden im Wasser eingeweicht, dann abgeschält und in zwei gleiche Portionen A und B zu je 500 Samen geteilt. Gesamtgewicht von A = 372 g; Gesamtgewicht von B = 365 g. Beide Portionen wurden in U-Röhren locker verteilt und ohne Anwendung der Kühlapparate 15 Stunden lang im Wasserstoffstrome belassen; dann wurde Portion A zur Alkoholbestimmung verwendet, Portion B aber mit einem Kühlapparate in Verbindung gebracht und noch 7 Stunden lang im Luftstrome belassen, dann ebenfalls zur Alkoholbestimmung verwendet. Die Alkoholbestimmungen ergaben folgende Resultate:

A. Kontrollportion C_2H_5OH = 780,9 mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen = 535,8 mg
„ C_2H_5OH im Kühlapparate = 22,1 „
Summe: C_2H_5OH = 557,9 mg

Abgeschälte Erbsensamen haben also nicht nur keinen Alkohol im Luftstrome gebildet, sondern, im Gegenteil, etwa 223 mg davon im Verlaufe von 7 Stunden verbraucht.

Versuch 4 (Wiederholung des vorstehenden).

Erbsensamen wurden 24 Stunden im Wasser eingeweicht, dann abgeschält und in zwei gleiche Portionen A und B zu je 500 Samen geteilt. Gesamtgewicht von A 395 g, Gesamtgewicht von B 391 g. Beide Portionen wurden im Verlaufe von $6^1/_2$ Stunden im Wasserstoffstrome belassen, dann wurde Portion A zur Alkoholbestimmung verwendet, Portion B aber mit einem Kühlapparate in Verbindung gebracht und noch 30 Stunden im Luftstrome belassen. Am Ende des Versuches haben sämtliche Samen der Versuchsportion B gekeimt.

A. Kontrollportion C_2H_5OH = 474,0 mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen 0,0 mg
„ C_2H_5OH im Kühlapparate 0,0 „

In diesem Versuche wurde also der gesamte bei Luftabschluß gebildete Alkohol alsdann bei Luftzutritt wieder verbraucht.

Versuch 5 (Wiederholung von 3 und 4).

Zwei Portionen der eingeweichten und abgeschälten Erbsensamen zu je 500 Stück. Gesamtgewicht der Kontrollportion A 396 g, Gesamtgewicht der Versuchsportion B 390 g. Beide Portionen wurden 4 Stunden lang im Wasserstoffstrome belassen, wonach die Kontrollportion A zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion B aber mit einem Kühlapparate in Verbindung gebracht und noch 12 Stunden im Luftstrome belassen wurde.

A. Kontrollportion C_2H_5OH = 312,1 mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen 45,9 mg
„ C_2H_5OH im Kühlapparate 0,0 „

Es wurde also bei Luftzutritt 266,2 mg Alkohol im Verlaufe von 12 Stunden verbraucht.

Die Resultate der drei vorstehenden Versuche zeigen, daß in abgeschälten Erbsensamen nicht nur keine Alkoholbildung, sondern zum Gegenteil ein langsamer Alkoholverbrauch stattfindet; die Anwesenheit der Schale ist hiernach die Ursache der Alkoholproduktion der Erbsensamen bei Luftzutritt. Polowzow und Godlewski hatten also beide recht: die Beobachtung Polowzows, daß die Alkoholproduktion der Erbsensamen unter normalen Verhältnissen der Keimung stattfindet, hat sich bestätigt; andrerseits ist auch der Einwand Godlewskis, daß es sich hier nicht um eine Gärung bei vollem Sauerstoffzutritt handelt, wohl zutreffend; nur wird die unvollkommene Oxydation durch die Struktur der Samen, nicht aber durch künstliche Bedingungen bewirkt.

Es bleibt noch zu untersuchen, ob der in meinen Versuchen stattgefundene Alkoholverbrauch auf die Anwesenheit des Embryos zurückzuführen ist, wie es Mazé[1]) anzunehmen scheint. Behufs Lösung dieser Frage wurden folgende Versuche ausgeführt.

Versuch 6.

Erbsensamen wurden 24 Stunden im Wasser eingeweicht, dann abgeschält. 1600 gesunde Samenlappen wurden von den Keimen abgetrennt, und in zwei Portionen A und B zu je 800 Samenlappen geteilt. Gesamtgewicht von A 300 g, Gesamtgewicht von B 305 g. Die Kontrollportion A wurde sofort zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion B wurde in großen U-Röhren locker verteilt, durch die Röhren wurde feuchte Luft im Verlaufe von 18 Stunden geleitet, wonach die Versuchsportion ebenfalls zur Alkoholbestimmung verwendet worden war.

A. Kontrollportion $C_2H_5OH = 71,6$ mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen 0,0 mg
„ C_2H_5OH im Kühlapparate 0,0 „

Es ergab sich also, daß die vom Embryo abgetrennten Samenlappen ebenso wie abgeschälte Samen Alkohol verbrauchen. Folgender Versuch, in dem auch CO_2-Bestimmung ausgeführt worden war, lieferte eben dasselbe Resultat.

Versuch 7.

Erbsensamen wurden 24 Stunden im Wasser eingeweicht; dann wurden zwei gleiche Portionen der von den Keimen abgetrennten Samen lappen zu je 1000 Stück hergestellt. Die Kontrollportion A wurde sofort zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion B wurde in großen U-Röhren locker verteilt, durch die Röhren wurde Luftstrom im Verlaufe von 9 Stunden geleitet. Nach einstündiger Luftdurchleitung wurde der Geißlersche Apparat eingeschaltet.

A. Kontrollportion $C_2H_5OH = 85,2$ mg
B. Versuchsportion $CO_2 = 313,5$ mg

---

[1]) Mazé, Annales de l'Inst. Pasteur **16**, 195, 1902.

C_2H_5OH in den Samen 0,0 mg
C_2H_5OH im Kühlapparate 0.0 „

Folgender Versuch zeigt, daß der Alkoholverbrauch durch die Samenlappen etwas langsamer erfolgt als durch abgeschälte Samen.

Versuch 8.

Erbsensamen wurden 24 Stunden im Wasser eingeweicht; dann wurden 2000 Samenlappen abpräpariert und in zwei Portionen zu je 1000 Stück geteilt; beide Portionen wurden in U-Röhren hineingetan und 6 Stunden lang im Wasserstoffstrome belassen. Alsdann wurde die Versuchsportion A zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion B aber mit einem Kühlapparate in Verbindung gebracht, $15^1/_2$ Stunden im Luftstrome belassen und dann ebenfalls zur Alkoholbestimmung verwendet.

A. Kontrollportion $C_2H_5 = 242{,}0$ mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen 93,7 mg
„ C_2H_5OH im Kühlapparate 0,0 „

Es wurden also in diesem Versuche 148,3 mg des Alkohols im Verlaufe von $15^1/_2$ Stunden von den Samenlappen verbraucht. Die abweichenden Resultate Mazés[1]), der eine Alkoholbildung bei Luftzutritt in den Samenlappen beobachtete, sind vielleicht dadurch erklärlich, daß die Versuche des genannten Forschers 8 Tage dauerten; hierbei nahm wahrscheinlich die Oxydationstätigkeit der Samenlappen nach und nach wieder ab,[2]) bis sie schließlich die Gesamtmenge der durch Zymase gebildeten Spaltungsprodukte des Zuckers nicht mehr zu oxydieren vermochte. Auch andere Erklärungen sind wohl möglich; jedenfalls zeigen meine Versuche, daß in den ersten Stadien der Keimung auch die vom Embryo abgetrennten Samenlappen Alkohol verbrauchen; die Anwesenheit des Embryos beschleunigt allerdings den Alkoholkonsum. Die bisher so verwickelte Frage der Alkoholgärung der Samenpflanzen bei Luftzutritt wurde also durch die oben beschriebenen Versuche in der Weise beantwortet, daß auch so tüchtige Gärungserreger wie Erbsensamen bei wirklich vollkommenem Sauerstoffzutritt keine Spur Alkohol bilden. Hierdurch wurde die Voraussetzung widerlegt, daß die Alkoholgärung der Samenpflanzen ein von der Sauerstoffabsorption vollkommen unabhängiger Prozeß sei.

Nun taucht aber die schwierigere Aufgabe betreffs der Rolle der Zymase im Atmungsprozesse auf. Wenn unter normalen Verhältnissen die Tätigkeit der Zymase der Samenpflanzen keine Alkoholbildung zur Folge hat, so ist es in der Weise zu deuten, daß entweder der bereits

---

[1]) Mazé, Annales de l'Inst. Pasteur 16, 195, 1902.

[2]) Aus nachfolgenden Versuchen wird ersichtlich werden, daß das Abschälen der Samen sofort einen kolossalen Aufschwung der Sauerstoffabsorption bewirkt.

gebildete Alkohol oder die Zwischenprodukte der Alkoholgärung im Atmungsprozesse oxydiert werden; in letzterem Falle wäre Äthylalkohol allerdings nur ein Nebenprodukt der Atmung, das unter normalen Verhältnissen nicht erzeugt wird. Will man also einen tieferen Einblick in das Wesen der vitalen Oxydation gewinnen, so muß vor allem die Frage gelöst werden, ob Äthylalkohol tatsächlich ein normales Zwischenprodukt der Atmung ist, aus dessen weiterer Oxydation die Endprodukte der vitalen Zuckerverbrennung, namentlich Kohlensäure und Wasser hervorgehen. Die oben beschriebenen Versuche mit abgeschälten Erbsensamen, in denen Alkoholverbrauch wahrgenommen wurde, sprechen zwar zugunsten der Annahme, daß eine Oxydation des Alkohols im Atmungsprozesse wohl möglich ist; die genannten Ergebnisse dürfen aber nicht ungezwungen verallgemeinert werden. Vor allem ist es auffallend, daß der Alkoholverbrauch sehr langsam erfolgte; ein Zwischenprodukt müßte aber schneller oxydiert werden als das ursprüngliche Reservematerial. Andrerseits darf es nicht außer acht gelassen werden, daß das Abschälen der Samen höchstwahrscheinlich einen Aufschwung der Oxydationtätigkeit zur Folge hat, wodurch auch solche Substanzen oxydiert werden könnten, die unter normalen Verhältnissen unberührt bleiben. Die beiden folgenden Versuche zeigen, daß die Sauerstoffabsorption der abgeschälten Samen tatsächlich stark zunimmt. Bei den unversehrten Erbsensamen hat Polowzow[1]) das Verhältnis $\frac{CO_2}{O_2}$ meistens bedeutend größer als 1, seltener beinahe gleich 1 gefunden; bei den abgeschälten Samen habe ich dagegen sehr niedrige Werte von $\frac{CO_2}{O_2}$ ermittelt.

Versuch 9.

Erbsensamen wurden im Verlaufe von 24 Stunden im Wasser eingeweicht, dann abgeschält. 150 abgeschälte Samen wurden in einen konischen, etwa 250 ccm fassenden Kolben mit dem oben erweiterten Halse hineingetan; der Kolben wurde durch einen Gummistopfen mit je einem Zu- und Ableitungsrohr verschlossen und die Erweiterung des Kolbenhalses über dem Stöpsel mit Quecksilber gefüllt. Nun wurde im Verlaufe von 10 Stunden Luftstrom durch den Kolben geleitet; letzterer wurde alsdann auf folgende Weise luftdicht geschlossen: das Ableitungsrohr, welches außerhalb des Kolbens zweimal unter rechtem Winkel gebogen worden war, wurde in Quecksilber versenkt; das Zuleitungsrohr, welches ebenfalls zweimal rechtwinklig gebogen und mit einem dickwandigen Gummischlauche versetzt worden war, wurde mit einer Gaspipette verbunden. Durch Entnahme einer entsprechenden Gasmenge wurde das Quecksilber im Ableitungsrohre auf einer bestimmten Höhe eingestellt, wonach der Gummischlauch und der äußere Schenkel des Zuleitungsrohres mit Quecksilber gefüllt wurden. Nach einer Stunde wurde

[1]) Polowzow l. c.

eine Gasprobe aus dem Kolben entnommen und im Apparate von Polowzow-Richter[1]) analysiert. Die Gasanalyse ergab folgendes Resultat:

$CO_2 = 4{,}05\,\%$; $O_2 = 8{,}46\,\%$; inerte Gase $= 87{,}49\,\%$;

$$\frac{CO_2}{O_2} = 0{,}28.$$

Versuch 10.

Genaue Wiederholung des vorstehenden mit einer anderen Portion der abgeschälten Samen (150 Stück). Die Gasprobe wurde nach Ablauf von einer Stunde entnommen. Die Gasanalyse ergab:

$CO_2 = 5{,}55\,\%$; $O_2 = 7{,}85\,\%$; inerte Gase $= 86{,}60\,\%$;

$$\frac{CO_2}{O_2} = 0{,}37.$$

Versuche 9 und 10 zeigen, daß die Sauerstoffabsorption der abgeschälten Erbsensamen mit großer Energie erfolgt; infolgedessen könnte wohl eine Oxydation des Alkohols stattfinden. Bevor man aber theoretische Schlußfolgerungen daraus zieht, muß man sich vergewissern, daß Alkohol wirklich ein Zwischenprodukt der Atmung ist, welches schließlich zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wird. Ist dies tatsächlich der Fall, so muß der Alkoholverbrauch eine Steigerung der Kohlensäureproduktion zur Folge haben, denn eine Oxydation des Zwischenproduktes muß schneller verlaufen als eine totale Verbrennung des ursprünglichen Atmungsmaterials. Weiter folgende Versuche zeigen jedoch, daß eine totale Oxydation des Alkohols wenig wahrscheinlich ist.

Versuch 11.

Erbsensamen wurden 24 Stunden im Wasser eingeweicht; dann wurden 300 Samen (187 g) abgeschält, in U-Röhren hineingetan und 20 Stunden lang im Luftstrome belassen, um einen Verbrauch des während des Einweichens gebildeten Alkohols zu erzielen. Dann wurde mit Hilfe der Geißlerschen Apparate die CO_2-Produktion der Samen zuerst im Luftstrome, dann im Wasserstoffstrome, schließlich wiederum im Luftstrome bestimmt. Ein jeder Geißlerscher Apparat wurde nach einstündiger lebhafter Luft- bzw. Wasserstoffdurchleitung eingeschaltet.

I.	$1^1/_2$ Stunden im Luftstrome	$CO_2 = 107{,}6$ mg
II.	$1^1/_2$ „ „ Wasserstoffstrome	$CO_2 = 108{,}6$ „
III.	$1^1/_2$ „ „ Luftstrome	$CO_2 = 66{,}4$ „

Nach der $1^1/_2$ stündigen Anaerobiose hat sich die Energie der CO_2-Produktion der Erbsensamen vermindert, obschon auf Grund der Ergebnisse der vorhergehenden Versuche anzunehmen ist, daß hierbei Alkoholverbrauch stattgefunden hat. Dasselbe Resultat lieferten die beiden nachfolgenden Versuche.

[1]) Polowzow l. c. — Richter, Travaux de la société des naturalistes de St. Petersbourg 33, 311, 1902/1903 (russisch).

Versuch 12.

Genaue Wiederholung des vorstehenden. Es kamen 300 Samen (185 g) in Anwendung. Die Samen wurden vor dem Beginn des Versuchs 20 Stunden lang im Luftstrome belassen.

I.	1 1/2 Stunden im Luftstrome	$CO_2 = 90{,}0$ mg
II.	1 1/2 „ „ Wasserstoffstrome	$CO_2 = 90{,}5$ „
III.	1 1/2 „ „ Luftstrome	$CO_2 = 65{,}6$ „

Versuch 13.

Wiederholung von 11 und 12. 500 abgeschälte Erbsensamen (311 g). Die Samen wurden vor dem Beginn des Versuchs 14 Stunden lang im Luftstrome belassen.

I.	2 Stunden im Luftstrome	$CO_2 = 206{,}8$ mg
II.	2 „ „ Wasserstoffstrome	$CO_2 = 254{,}3$ „
III.	2 „ „ Luftstrome	$CO_2 = 152{,}0$ „

Versuche 11, 12 und 13 zeigen, daß bei Erbsensamen der Verbrauch des im Wasserstoffstrome gebildeten Alkohols keine Steigerung der CO_2-Produktion zur Folge hat; die Atmungsenergie wurde vielmehr durch zeitweilige Sauerstoffentziehung bedeutend abgeschwächt. Die weiter folgenden Versuche zeigen auch tatsächlich, daß bei anderen energisch atmenden Objekten, namentlich bei Weizenkeimen und Weizensamen überhaupt kein Alkoholkonsum möglich ist. Diese Versuche sind um so überzeugender, als das Versuchsmaterial dabei in einem unversehrten Zustande zu den Versuchszwecken verwendet worden war; es ist also die Annahme nicht unwahrscheinlich, daß in abgeschälten Erbsensamen eine künstlich hervorgerufene Steigerung der Oxydationstätigkeit stattgefunden hat.

Versuch 14.

Gut ausgewaschene Weizenkeime wurden im Verlaufe von 1 Stunde[1]) im Wasser aufgeweicht, dann mit Fließpapier abgetrocknet, gewogen und zu den Versuchszwecken verwendet. Es wurden zwei Portionen zu je 116 g genommen. Beide Portionen wurden in U-Röhren locker verteilt. Um eine vollkommene Aeration zu erzielen, wurden Streifen von Josefpapier mit nassen Keimen beschmiert und dann in die U-Röhren hineingetan; dieselbe Methode kam auch in sämtlichen übrigen mit Weizenkeimen ausgeführten Versuchen in Anwendung. Durch die Röhren wurde im Verlaufe von 4 Stunden Wasserstoffstrom geleitet, wonach die Kontrollportion A zur Alkoholbestimmung verwendet, die Versuchsportion B aber mit einem Kühlapparate verbunden und 5 Stunden im Luftstrom belassen wurde; dann wurde auch die Versuchportion zur Alkoholbestimmung verwendet. Die Alkoholbestimmungen lieferten folgende Resultate:

[1]) Aus weiter folgenden Versuchen wird ersichtlich werden, daß die im Verlauf so kurzer Zeit eingeweichten Keime ihre Lebenstätigkeit im vollen Umfange entfalten und eine große Atmungsenergie aufweisen.

A. Kontrollportion C_2H_5OH = 229,2 mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH in den Samen = 214,9 mg
C_2H_5OH im Kühlapparate = 0,0 „

Die Differenz zwischen der Kontroll- und der Versuchsportion beträgt 14,3 mg. Diese Zahl liegt innerhalb der Fehlergrenzen der pyknometrischen Bestimmungen; es wurde also kein nennenswerter Alkoholverbrauch wahrgenommen.

Im folgenden Versuche wurden Weizenkeime direkt im verdünnten Alkohol eingeweicht. Obschon hierbei eine beträchtliche Alkoholmenge von den Keimen aufgenommen worden war, fand dennoch keine Oxydation des genannten Stoffes statt.

Versuch 15.

Weizenkeime wurden mit alkoholhaltigem Wasser (Alkoholgehalt = 2,0 Gew.-Proz.) erst gewaschen, dann in einem Becherglase übergossen und im Verlaufe von einer Stunde eingeweicht, schließlich mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen und mit Fließpapier abgetrocknet. 120 g der so behandelten Keime wurden sofort zur Alkoholbestimmung verwendet; eine andere Portion (150 g) wurde zuerst 6 Stunden lang im Luftstrome belassen, dann ebenfalls zur Alkoholbestimmung verwendet. Die Alkoholbestimmungen ergaben folgende Resultate:

A. Kontrollportion (120 g) C_2H_5OH = 825,0 mg
B. Versuchsportion (150 g) C_2H_5OH in den Samen = 908,1 „
C_2H_5OH im Kühlapparate = 127,4 „
Summe 1035,5 mg.

Wenn man die in der Versuchsportion ermittelte Alkoholmenge auf 120 g des Versuchsmaterials berechnet, so erhält man: C_2H_5OH = 828,4 mg; in 120 g der Kontrollportion wurden aber 825,0 mg Alkohol gefunden; es wurde also auch in diesem Versuche keine Spur Alkohol konsumiert.

Auch eingeweichte Weizensamen ergaben übereinstimmendes Resultat, wie es aus dem folgenden Versuche ersichtlich ist.

Versuch 16.

Weizensamen wurden im Verlauf von 24 Stunden im Wasser eingeweicht, dann mit Fließpapier abgetrocknet und in zwei gleiche Portionen zu je 430 g geteilt. Beide Portionen wurden in große U-Röhren hineingetan und 25 Stunden lang im Wasserstoffstrome belassen. Dann wurde die Kontrollportion A zur Alkoholbestimmung verwendet; die Versuchsportion B wurde mit einem Kühlapparate in Verbindung gebracht und im Verlaufe von 10 Stunden im Luftstrome belassen, wonach die Samen mit dem Inhalt des Kühlapparates vereinigt und zur Alkoholbestimmung verwendet worden waren.

A. Kontrollportion C_2H_5OH = 324,7 mg
B. Versuchsportion C_2H_5OH = 318,7 „

Es ist also ersichtlich, daß in den energisch atmenden Weizenkeimen und Weizensamen gar keine Oxydation des Alkohols stattfindet. Folgende Versuche zeigen, daß bei Weizenkeimen ebenso wie bei abgeschälten Erbsensamen die Atmungsenergie durch die Gegenwart des Alkohols nicht erhöht wird. In diesen Versuchen wurden die Geißlerschen Apparate immer nach $^1/_2$stündiger lebhafter Luftdurchleitung eingeschaltet.

Versuch 17.

Weizenkeime wurden gut ausgewaschen, 2 Stunden lang im Wasser eingeweicht und abgetrocknet. 92 g der Keime wurden in ein U-Rohr hineingetan.

I. 2 Stunden im Luftstrome $CO_2 = 62,3$ mg.
II. $2^1/_2$ „ im Wasserstoffstrome ohne CO_2-Absorption,
III. 2 „ im Luftstrome $CO_2 = 44,3$ mg.

Versuch 18. Wiederholung des vorstehenden.

Zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 93 g. Das Einweichen im Wasser dauerte $^1/_2$ Stunde.

I. 2 Stunden im Luftstrome
Portion A: $CO_2 = 94,9$ mg
Portion B: $CO_2 = 97,9$ „
II. $3^1/_2$ Stunden im Wasserstoffstrome ohne CO_2-Absorption,
III. 2 „ im Luftstrome
Portion A: $CO_2 = 95,0$ mg
Portion B: $CO_2 = 93,3$ „

Versuche 17 und 18 beweisen, daß die CO_2-Produktion der Weizenkeime nach $2^1/_2$- bis $3^1/_2$stündiger Sauerstoffentziehung nicht zunimmt. Da aber die bei so kurzer Anaerobiose gebildete Alkoholmenge möglicherweise zu gering war, um eine merkliche Steigerung der CO_2-Produktion hervorzurufen, so wurde in den beiden folgenden Versuchen die Versuchsportion der Keime direkt im verdünnten Alkohol eingeweicht und die CO_2-Produktion der so behandelten Keime mit derjenigen der im Wasser eingeweichten Kontrollportion verglichen. Die Resultate des Versuches 18 zeigen, daß zwei unter gleichen Verhältnissen gleichzeitig atmenden Portionen der Weizenkeime gleiche CO_2-Mengen produzieren; hiernach ist ersichtlich, daß bei Weizenkeimen parallele Versuche wohl gerechtfertigt sind.

Versuch 19.

Weizenkeime wurden in zwei gleiche Portionen A und B geteilt. A wurde in destilliertem Wasser, B wurde in alkoholhaltigem Wasser (Alkoholgehalt 0,8 Gewichtsprozent) im Verlaufe von $^1/_2$ Stunde eingeweicht. Für den Versuch wurden von je einer Portion 67 g abgewogen.

$2^1/_2$ Stunden im Luftstrome:
A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 119,4$ mg
B. Versuchsportion (Alkohol 0,8%) $CO_2 = 114,1$ „

Versuch 20.

Wiederholung des vorstehenden. Es wurden zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 100 g genommen. Portion A wurde vorher im Wasser, Portion B in 2%iger Alkohollösung im Verlaufe von 1/2 Stunde eingeweicht.

2 Stunden im Luftstrome:

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 111,6$ mg
B. Versuchsportion (Alkohol 2%) $CO_2 = 92,6$ „

Beide Portionen wurden alsdann 2 Stunden lang im Luftstrome ohne CO_2-Absorption belassen, wonach die Geißlerschen Apparate wieder eingeschaltet wurden.

2 Stunden 40 Minuten im Luftstrome:

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 146,4$ mg
B. Versuchsportion (Alkohol 2%) $CO_2 = 140,7$ „

Die Gesamtheit der vorstehend beschriebenen Versuche, deren Resultate vollkommen übereinstimmen, zeigt, daß der fertige Alkohol allem Anschein nach keine Rolle im Atmungsprozesse spielt. Nur abgeschälte Erbsensamen haben den Alkohol bei Luftzutritt konsumiert, doch wurde hierbei keine vollständige Oxydation des Alkohols zu Kohlensäure und Wasser wahrgenommen, obschon die Sauerstoffabsorption der abgeschälten Erbsensamen mit großer Energie verläuft. Bei Weizensamen und Weizenkeimen wurde überhaupt kein Alkoholverbrauch wahrgenommen; auch wird durch Alkoholgabe die vitale Oxydation der Weizenkeime nicht beschleunigt. Diese Tatsachen sind nun in der Weise zu deuten, daß der normale Atmungsprozeß der Pflanzen ohne Oxydation des vorher gebildeten Alkohols stattfindet. Den von mir erhaltenen Resultaten sind auch diejenigen von Mazé und Perrier[1]) und von Wehmer[2]) anzureihen. Die beiden erstgenannten Forscher vermochten bei abgeschnittenen Fliederzweigen, deren Schnittflächen in Alkohollösungen versenkt worden waren, keine Oxydation des Alkohols wahrzunehmen. Auch ist es Wehmer nicht gelungen, bei dem auf Zuckerlösungen kultivierten Schimmelpilze Mucor racemosus einen Alkoholkonsum nachzuweisen.

Es bleibt freilich noch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der durch die Zymase der Samenpflanzen gebildete Alkohol in statu nascendi oxydiert wird. Obschon eine Verarbeitung verschiedener Stoffe in statu nascendi bei den physiologischen Prozessen wohl nicht zu leugnen ist, darf man dennoch in den einzelnen Fällen der experimentellen Forschung nach den diesbezüglichen Hypothesen nur dann greifen, wenn keine anderen Erklärungen möglich sind: die Annahme einer Verarbeitung in statu nascendi leidet an dem Übelstande, daß sie meistens auf experimentellem Wege nicht nachgeprüft werden kann; eine weitere exakte

[1]) Mazé und Perrier, Annales de l'Inst. Pasteur 18, 740, 1904.
[2]) Wehmer, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, 14, 556, 1905.

Bearbeitung der betreffenden Frage muß also dann ein Ende haben. In dem vorliegenden Falle ist aber die Annahme einer Oxydation des Alkohols in statu nascendi sogar als voreilig anzusehen, denn Alkoholgärung ist ein komplizierter Prozeß, und es ist hiernach die Voraussetzung möglich, daß nicht Äthylalkohol selbst, sondern intermediäre Produkte der Zymasegärung im Atmungsprozesse oxydiert werden. Durch diese Erwägungen angeregt, habe ich mich entschlossen, die Oxydationsfähigkeit der Samenpflanzen gegenüber verschiedenen Stoffen zu untersuchen, die bei der Alkoholgärung entstehen und vielleicht als Zwischenprodukte der Zuckerspaltung anzusehen sind. Diese peinliche Arbeit wurde dadurch erleichtert, daß 'mir ein zu derartigen Versuchen vorzüglich geeignetes Material zu Gebote stand, namentlich Weizenkeime. Aus den weiter folgenden Versuchen wird ersichtlich werden, daß Weizenkeime Zucker und andere Substanzen in gelöstem Zustande schnell resorbieren und eventuell auch veratmen. Von dem Gedanken ausgehend, daß ein Zwischenprodukt der vitalen Oxydation besonders schnell verarbeitet werden muß, habe ich eine Reihe paralleler Versuche ausgeführt, in denen gleiche Gewichtsmengen der Weizenkeime im Wasser, bzw. in verschiedenen Lösungen eingeweicht und dann gleichzeitig für die CO_2-Bestimmungen verwendet worden waren. Versuch 18 zeigt, daß gleiche Gewichtsmengen der unter gleichen Verhältnissen eingeweichten Keime gleiche CO_2-Mengen abscheiden. Wenn also durch die Aufnahme einer bestimmten Substanz eine Steigerung der CO_2-Produktion der Keime bewirkt wird, so darf man annehmen, daß die genannte Substanz ein sehr geeignetes Atmungsmaterial vorstellt.

Lufttrockene Weizenkeime wurden immer zuerst mit der zum Einweichen bestimmten Flüssigkeit mehrmals ausgewaschen, dann eine Zeitlang eingeweicht,[1]) mit Fließpapier abgetrocknet, gewogen und mit Hilfe des Josefpapiers in U-Röhren locker verteilt. Durch die Röhren wurde alsdann CO_2-freie Luft geleitet und die von den Keimen produzierte Kohlensäure mittels der Geißlerschen Apparate bestimmt.

Zunächst mußte selbstverständlich festgestellt werden, ob die gelösten Stoffe von den Keimen nicht nur resorbiert, sondern auch verarbeitet werden. Folgende Versuche zeigen, daß Glukose tatsächlich eine Steigerung der Atmungsenergie bewirkt.

Versuch 21.

Weizenkeime wurden in zwei Portionen geteilt; Portion A wurde im Wasser, Portion B wurde in 5%iger Glukoselösung $1^1/_2$ Stunden lang eingeweicht. Von einer jeden Portion wurden 90 g für den Versuch abgewogen. Luftstrom; Versuchsdauer $2^1/_2$ Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 =$ 93,8 mg
B. Versuchsportion (5% Glucoselösung) $CO_2 =$ 126,4 „

[1]) Die Kontroll- und die Versuchsportion wurden immer mit gleichen Flüssigkeitsmengen gewaschen und in gleichen Flüssigkeitsmengen eingeweicht.

Die Zuckergabe hatte eine Steigerung der Atmungsenergie um 34,7% zur Folge.

Versuch 22.

Zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 31 g. Portion A wurde im Wasser, Portion B wurde in 5% Glukoselösung eine Stunde lang eingeweicht. Luftstrom; Versuchsdauer 7 Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 =$ 88,4 mg
B. Versuchsportion (5% Glukoselösung) $CO_2 =$ 133,9 „

In diesem länger dauerndem Versuche hat Glukosegabe eine Steigerung der Atmungsenergie um 62,8% hervorgerufen.

Aus den Versuchen 21 und 22 ist ersichtlich, daß sich die Zuckergabe bereits nach einstündigem Einweichen geltend macht. Dieses Resultat beweist, daß Zucker im Atmungsprozesse der Weizenkeime direkt oxydiert wird; die von einigen Verfassern ausgesprochene Voraussetzung, daß bei der Pflanzenatmung nur Eiweißstoffe direkt oxydiert werden, erscheint also wenig wahrscheinlich. Hierdurch will ich keineswegs behaupten, daß eine Veratmung der Eiweißstoffe durch die Pflanzen überhaupt nicht möglich ist. Folgender Versuch zeigt allerdings, daß künstliches Peptonpräparat[1]) durch die Keime nicht veratmet wird.

Versuch 23.

Zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 30 g. Portion A wurde im Wasser, Portion B wurde in 3% Peptonlösung zwei Stunden lang eingeweicht. Luftstrom; Versuchsdauer vier Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 =$ 86,1 mg
B. Versuchsportion (3% Peptonlösung) $CO_2 =$ 87,5 „

Pepton hat also keinen Einfluß auf die CO_2-Produktion der Weizenkeime.

Nachdem durch obige Versuche festgestellt worden war, daß Zucker die Atmungsenergie der Keime steigert, Alkohol aber nicht zu CO_2 und H_2O oxydiert werden kann, müssen nun die Zwischenprodukte der Alkoholgärung in derselben Beziehung untersucht werden. Zu diesem Zwecke habe ich die durch Acetondauerhefe vergorenen Zuckerlösungen den Weizenkeimen zur Verfügung gestellt. Eine Zuckervergärung durch lebende Hefe wurde aus dem Grunde vermieden, daß lebende Organismen meistens eine vollständige Verarbeitung des Betriebsmaterials bis zu den Endprodukten bewirken; in den abgetöteten Zellen wird aber die selbstregulierende Korrelation der Enzyme zerstört; infolgedessen entstehen hierbei häufig beträchtliche Mengen der Zwischenprodukte der vitalen Prozesse. Folgende Versuche sind unter Anwendung der durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen ausgeführt.

---

[1]) Das Handelspräparat ist nichts anderes als ein Gemisch von verschiedenen Albumosen.

Versuch 26.

Zu einer sterilisierten Lösung von 25 g reinster Glukose in 500 ccm destilliertem Wasser wurden 25 g gewöhnlichen Zymins zugesetzt. Der Kolben wurde mit einem lockeren Wattepfropfen verschlossen und im Verlaufe von drei Tagen in Dunkelheit bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde das Zymin abfiltriert und ein Teil des Filtrates zur Zuckerbestimmung nach der gewichtsanalytischen Methode verwendet. 25 ccm des mit vier Volumina Wasser versetzten und nach dem Verfahren von Rona und Michaelis[1]) durch Kaolinpulver enteiweißten Filtrates gaben:

Cu 305 mg = Glukose 159.3 mg

Wenn wir annehmen, daß die gesamte Kupfermenge nur durch Glukose reduziert worden war, so ergibt sich die Glukosemenge in der vergorenen Flüssigkeit gleich 15,93 g; es wurden also nur etwa 3 g Glukose vergoren. 290 ccm der vergorenen Flüssigkeit (Glukosegehalt = 9,24 g) wurden behufs Entfernung der flüchtigen Produkte der Gärung einer Destillation unterworfen; der Rückstand von dieser Destillation wurde bis auf 300 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt. In der so dargestellten Flüssigkeit wurde die Versuchsportion der Keime eingeweicht. Gleichzeitig wurde auch die Kontrollportion in einer Zuckerlösung eingeweicht, die folgendermaßen zubereitet wurde: 9,24 g Glukose wurden in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung bis auf 300 ccm mit Wasser verdünnt. Das Einweichen der beiden Portionen dauerte drei Stunden. Eine derartige Versuchsanstellung hatte den Zweck zu erforschen, ob der Einfluß der Zwischenprodukte der Alkoholgärung auf die CO_2-Produktion der Weizenkeime sich bei gleichem Zuckergehalt des Quellungswassers der Kontroll- und der Versuchsportion geltend macht. Sind Zwischenprodukte der Alkoholgärung zugleich Zwischenprodukte der vitalen Oxydation des Zuckers, so ist zu erwarten, daß sie stärker als Zucker die Atmungsenergie steigern und folglich den bereits durch Zuckergabe hervorgerufenen Aufschwung der CO_2-Produktion noch vergrößern.[2])

Es wurden von den beiden Portionen je 29 g zu den Versuchszwecken verwendet. Die mit Fließpapier abgetrockneten Keime wurden in U-Röhren locker verteilt und sechs Stunden lang im Luftstrome belassen. Die Geißlerschen Apparate wurden nach $^1/_2$stündiger lebhafter Luftdurchleitung eingeschaltet; die CO_2-Absorption dauerte also $5^1/_2$ Stunden.

A. Kontrollportion (Glukoselösung) CO_2 = 128,6 mg
B. Versuchsportion (vergorene Glukoselösung) CO_2 = 147,8 „

[1]) Rona und Michaelis, diese Zeitschr. 5, 365, 1907.

[2]) Es ist wohl möglich, daß ein Teil des bei der Analyse der vergorenen Flüssigkeit erhaltenen Kupfers nicht durch Glukose, sondern durch etwaige bei der Gärung entstandene Produkte reduziert worden war. Dies kann aber das Versuchsresultat keineswegs beeinträchtigen; ist obige Annahme richtig, so muß der Zuckergehalt der Kontrollportion noch größer sein als derjenige der Versuchsportion.

Nach Beendigung des Versuches haben sich die Keime der Versuchsportion ein wenig schwarz gefärbt; diejenigen der Kontrollportion behielten aber ihre ursprüngliche gelbliche Färbung bei.

Die Differenz der durch die Kontroll- und die Versuchsportion abgeschiedenen CO_2-Mengen ist in diesem Versuche unbedeutend, dies rührt aber davon her, daß die Menge der den Weizenkeimen zur Verfügung gestellten Zwischenprodukte der Alkoholgärung sehr gering war. Von den 9 g der vergorenen Glukose wurde selbstverständlich der größte Teil total zu Alkohol und Kohlensäure verarbeitet; die äußerst verdünnte Lösung der entstandenen Zwischenprodukte vermochte bei dem großen Zuckergehalt der beiden Portionen keine bedeutende weitere Steigerung der Atmungsenergie hervorzurufen. Die so schwache Arbeit des Zymins wurde im vorstehenden Versuche offenbar dadurch bedingt, daß hierbei eine zu große Wassermenge in Anwendung kam. Im folgenden Versuche wurde eine bedeutend konzentriertere Lösung verwendet; infolgedessen wurde der größte Teil des Zuckers vergoren. Die den Weizenkeimen in genügender Menge dargebotenen Zwischenprodukte der Gärung haben tatsächlich die Atmungsenergie stärker erhöht, als dies bei Zuckergabe der Fall war.

Versuch 27.

Zu einer sterilisierten Lösung von 10 g Glukose in 75 ccm Wasser wurden 25 g glykogenarmen Zymins zugesetzt; das Gemisch wurde vier Tage lang bei Zimmertemperatur belassen, dann ausgekocht und filtriert, das Filtrat mit dem Waschwasser vereinigt und bis auf 250 ccm verdünnt. Ein Teil der erhaltenen Flüssigkeit wurde mit noch 4 Volumina Wasser versetzt, vom Eiweiß befreit und zur Zuckerbestimmung verwendet.

25 ccm der fünffach verdünnten Flüssigkeit gaben:

Cu 83,5 mg = Glukose 42,3 mg

Die Gesamtmenge der Glukose im Filtrate war hiernach gleich 2,115 g. Es wurde sodann eine Glukoselösnng von eben demselben Gehalt zubereitet und zum Einweichen der Kontrollportion der Weizenkeime verwendet. Die Versuchsportion wurde in der vergorenen Flüssigkeit eingeweicht. Das Einweichen dauerte drei Stunden. Von je einer Portion wurden 26 g für den Versuch abgewogen. Nach vierstündiger Luftdurchleitung wurden folgende CO_2-Mengen erhalten:

B. Kontrollportion (Glukoselösung) CO_2 = 63,3 mg
B. Versuchsportion (vergorene Lösung) CO_2 = 96,8 „

Die in der vergorenen Lösung eingeweichte Portion hat also um 53% mehr CO_2 produziert als die in Zuckerlösung eingeweichte, obschon letztere freilich eine im Vergleich zu den normalen Verhältnissen bereits gesteigerte Atmungsenergie aufwies (siehe Versuche 21 und 22). Die in der vergorenen Lösung eingeweichten Keime nahmen allmählich eine schwarze Färbung an, während die in Zuckerlösung eingeweichten Keime ihre ursprüngliche gelbliche Färbung beibehielten. Das Auftreten der schwarzen Färbung deutet auf eine starke Oxydation hin; die oxydieren-

den Faktoren haben höchstwahrscheinlich an der Grenze ihrer Leistungsfähigkeit gearbeitet.

In den beiden vorstehenden Versuchen kamen Zuckerlösungen in Anwendung, die nicht total vergoren waren; hierdurch war ein Vergleich der Einwirkung des Zuckers mit derjenigen der Zwischenprodukte der Gärung ermöglicht. Folgender Versuch wurde mit einer Lösung ausgeführt, die total vergoren war. Nach den Angaben von Buchner und Antoni[1]) ist eine schnelle und vollkommene enzymatische Zuckervergärung leicht und sicher dadurch zu erzielen, daß man die gärende Flüssigkeit mit einem phosphorsauren Salz versetzt. Die Richtigkeit dieser Beobachtung konnte ich im vollen Maße bestätigen.

Versuch 28.

Eine Lösung von 10 g Glukose und 4 g Natriumphosphat in 75 ccm destilliertem Wasser wurde mit 25 g gewöhnlichen Zymins versetzt und vier Tage lang in Dunkelheit bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann klar filtriert. Das Filtrat gab nach erfolgter Enteiweißung gar keine Reaktion mit Fehlingscher Lösung; auch in dem Falle, wenn man die vergorene Flüssigkeit behufs Inversion der etwa gebildeten Biosen zuvor eine Stunde lang auf dem Wasserbade mit verdünnter Salzsäure erhitzte, trat keine Reduktion der Fehlingschen Lösung auf. Das Filtrat wurde mit dem Waschwasser vereinigt, während kurzer Zeit auf dem Wasserbade erhitzt (behufs Entfernung der flüchtigen Gärungsprodukte) und nach dem Erkalten zum Einweichen der Versuchsportion der Weizenkeime verwendet. Die Kontrollportion wurde im Wasser eingeweicht. Das Einweichen dauerte drei Stunden; dann wurden von je einer Portion 26 g zu dem Versuche abgewogen. Im Verlaufe von $4^1/_2$ Stunden wurden folgende CO_2-Mengen produziert;

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 84,4$ mg

B. Versuchsportion (vergorene Glukoselösung) $CO_2 = 115,8$ „

Auch in diesem Versuche hat sich die Vorsuchsportion der Keime nach und nach schwarz gefärbt, während die Kontrollportion ihre gelbliche Färbung nicht veränderte.

Die weiter folgenden Versuche, deren Zweck war, die Natur der die vitale Oxydation befördernden Substanzen näher kennen zu lernen, ergaben bis jetzt nur negative Resultate, die aber in der Beziehung lehrreich sind, daß sich die fragliche Substanz (oder Substanzen ?) mit den wenigen bisher bekannten Gärungsprodukten allem Anschein nach nicht identisch erwies. Von letzteren kommt in erster Linie die Milchsäure in Betracht, die den Anschauungen von Buchner und Meisenheimer[2]) nach, denen sich auch andere Verfasser angeschlossen haben, als ein intermediäres Produkt der Alkoholgärung anzusehen ist. Folgende Ver-

---

[1]) Buchner und Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 136, 1905.

[2]) Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 37, 417, 1904 u. 38, 620, 1905.

suche zeigen jedoch, daß Milchsäure die CO_2-Produktion der Weizenkeime nicht befördert.

Versuch 29.

Zwei Portionen der eingeweichten Weizenkeime zu je 120 g. Die Kontrollportion A wurde im Wasser, die Versuchsportion B wurde in einer 2%igen Lösung von Ammoniumlaktat 1 Stunde lang eingeweicht. Luftstrom. Versuchsdauer $2^1/_2$ Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 155,0$ mg
B. Versuchsportion (2% Ammoniumlaktatlösung) $CO_2 = 122,0$ „

Es ist ersichtlich, daß ein neutrales Laktat bei der Atmung der Weizenkeime nicht verarbeitet wird; die CO_2-Produktion der Versuchsportion war schwächer als diejenige der in Wasser eingeweichten Kontrollportion der Keime.

Versuch 30.

Zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 60 g. Die Kontrollportion A wurde im Wasser, die Versuchsportion B wurde in einer 1%igen Lösung der freien Milchsäure $1^1/_2$ Stunden eingeweicht. Luftstrom. Versuchsdauer 3 Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 73,2$ mg
B. Versuchsportion (1% Milchsäure) $CO_2 = 0,7$ „

Die CO_2-Produktion der in 1% Milchsäure eingeweichten Keime wurde durch die Einwirkung saurer Lösung total eingestellt. Aus den beiden obigen Versuchen ist ersichtlich, daß, wenn auch Milchsäure tatsächlich ein Zwischenprodukt der Alkoholgärung ist, so findet allerdings eine Oxydation der intermediären Gärungsprodukte bei der Atmung der Weizenkeime bereits in früheren Stadien der Zuckerspaltung, also noch vor der Bildung der Milchsäure, statt.

Nun taucht die Frage auf, ob nicht schlechterdings die in der durch Zymin vergorenen Zuckerlösung enthaltenen Phosphate die Atmungsenergie der Weizenkeime steigern. Nachdem Buchner und Antoni[1]) eine stimulierende Wirkung der Phosphate auf die Alkoholgärung entdeckt haben, scheint die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, daß auch die Sauerstoffatmung von den Phosphaten in analoger Weise abhängig ist. Folgende Versuche zeigen aber, daß die vitale Oxydation der lebenden Weizenkeime durch Phosphate nicht beschleunigt wird.

Versuch 31.

Drei Portionen der eingeweichten Keime zu je 62 g. Portion A wurde im Wasser, Portion B in einer 3%igen Natriumphosphatlösung, Portion C in einer 0,4%igen Lösung der freien Phosphorsäure eingeweicht. Das Einweichen dauerte 45 Minuten. Luftstrom. Versuchsdauer $3^1/_4$ Stunden.

---

[1]) Buchner und Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 136, 1905.

Portion A (Wasser) $CO_2 = 90,4$ mg
Portion B (Na_2HPO_4 3 %) $CO_2 = 98,6$ „
Portion C (H_3PO_4 0,4 %) $CO_2 = 80,5$ „

Versuch 32.

Zwei Portionen der eingeweichten Weizenkeime zu je 54 g. Portion A wurde im Wasser, Portion B in einer 3,5 % Natriumphosphatlösung eingeweicht. Das Einweichen dauerte 40 Minuten. Luftstrom. Versuchsdauer 5 Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 128,0$ mg
B. Versuchsportion (Na_2HPO_4 $CO_2 = 120,0$ „

Beide Versuche zeigen, daß Phosphate nicht als Ursache des Aufschwungs der Atmungsenergie der in vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keime anzusehen sind.

Es muß schließlich an die phosphorhaltige organische Substanz gedacht werden, die von Harden und Young[1]) und späterhin von Iwanoff[2]) in den durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen aufgefunden worden war. Es ist die Voraussetzung nicht unwahrscheinlich, daß die genannte Substanz ein mit Phosphorsäure gepaartes Zwischenprodukt der Alkoholgärung ist. Diese phosphorhaltige Substanz habe ich nach den Angaben von Iwanoff[2]) folgendermaßen dargestellt.

Versuch 33.

Eine Lösung von 40 g Glukose und 10 g Natriumphosphat in 250 ccm Wasser wurde mit 40 g gewöhnlichen Zymins versetzt und das Gemisch 2 Tage lang in Dunkelheit bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde das Zymin abfiltriert und das Filtrat mit einer kaltgesättigten Kupferazetatlösung im Überschuß versetzt. Der entstandene voluminöse Niederschlag wurde abfiltriert und mit destilliertem Wasser mehrmals ausgewaschen; obschon hierbei ein Teil des Niederschlages wahrscheinlich aufgelöst wird und folglich verloren geht, ist dennoch ein peinliches Auswaschen unentbehrlich, wie ich es aus mißgelungenen Versuchen erkannt habe. Der ausgewaschene Niederschlag wurde in einen Kolben hineingetan, mit Wasser angerührt und durch Schwefelwasserstoff entkupfert; Kupfersulfid wurde abfiltriert und das Filtrat auf dem Wasserbade bis zum vollständigen Austreiben des Schwefelwasserstoffs vorsichtig erhitzt. Ich erhielt hierbei eine gelbe Lösung von schwachsaurer Reaktion, die keine Spur der Biuretreaktion gab und Fehlingsche Lösung reduzierte. Magnesiamixtur bewirkte eine geringe amorphe Fällung; erst nach dauerndem Stehenlassen bildeten sich allmählich die Krystalle des Ammonium-Magnesiumphosphates. Molybdänflüssigkeit lieferte eine gelbe Fällung ebenfalls erst nach dauerndem Stehenlassen.

---

[1]) Harden and Joung, Proced. of the physiol. soc. Nov. 1904.
[2]) Iwanoff, L., Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 281, 1906.

Die erhaltene Lösung der phosphorhaltigen organischen Substanz wurde mit Natriumcarbonat vorsichtig neutralisiert und zum Einweichen der Versuchsportion der Weizenkeime verwendet. Die Kontrollportion wurde im Wasser eingeweicht. Das Einweichen dauerte 2 Stunden. Von einer jeden Portion wurden 33 g zu dem Versuche abgewogen. Versuchsdauer 4 Stunden.

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 72{,}2$ mg
B. Versuchsportion (P-haltige Substanz) $CO_2 = 84{,}0$ „

Die in der Lösung der phosphorhaltigen Substanz eingeweichte Portion hat zwar etwas mehr CO_2 produziert, als die Kontrollportion, doch war die Differenz geringer, als in denjenigen Versuchen, wo die Versuchsportion der Keime in Glukoselösungen eingeweicht worden war. Auch folgender Versuch ergab eben dasselbe Resultat.

Versuch 34.

Zwei Portionen der eingeweichten Keime zu je 49 g. Portion A wurde im Wasser, Portion B in einer nach der obigen Methode dargestellten Lösung der phosphorhaltigen organischen Substanz 2 Stunden lang eingeweicht. Die Lösung der phosphorhaltigen Substanz war bedeutend konzentrierter, als in dem vorstehenden Versuche. Es wurden von den beiden Portionen folgende CO_2-Mengen im Verlaufe von 4 Stunden im Luftstrome produziert:

A. Kontrollportion (Wasser) $CO_2 = 114{,}6$ mg
B. Versuchsportion (P-haltige Substanz) $CO_2 = 123{,}3$ „

Das Resultat von diesem Versuche stimmt mit demjenigen des vorstehenden Versuches vollkommen überein. Die in der Lösung der bei der Gärung entstehenden phosphorhaltigen organischen Substanz eingeweichten Keime bildeten zwar eine größere CO_2-Menge, als die im Wasser eingeweichte Kontrollportion, der Einfluß der fraglichen Substanz auf die CO_2-Produktion der Keime war aber nicht nur bedeutend geringer, als der Einfluß der im ganzen verwendeten vergorenen Flüssigkeit, sondern auch geringer als derjenige der nicht vergorenen Glukoselösungen. Auch wurde kein Schwarzwerden der in der Lösung der phosphorhaltigen Substanz eingeweichten Keime wahrgenommen. Hiernach scheint es wahrscheinlich zu sein, daß die bei der Zymasegärung entstehende phosphorhaltige Substanz kein Zwischenprodukt der vitalen Oxydation des Zuckers ist. Wenn in den beiden vorstehenden Versuchen die CO_2-Produktion der Weizenkeime durch die fragliche Substanz etwas befördert wurde, so rührt dies möglicherweise davon her, daß der organische Bestandteil der genannten Substanz eine zuckerartige Verbindung ist, die an und für sich im Atmungsprozesse oxydiert werden kann. Zugunsten dieser Voraussetzung spricht der Umstand, daß die Lösungen der bei der Gärung entstehenden phosphorhaltigen Substanz CuO reduzieren. Auch ist die Annahme nicht ausgeschlossen, daß durch die bei der Darstellung der fraglichen Substanz angewendeten Behandlungen

(besonders aber durch Erhitzen) ihre Eigenschaften in der Beziehung etwas verändert worden waren, daß das erhaltene Produkt nicht mehr so leicht oxydiert werden konnte wie die nicht isolierte Substanz. Ich habe u. a. beobachtet, daß auch im ganzen verwendete vergorene Zuckerlösungen nach dem Erhitzen eine geringere Steigerung der CO_2-Produktion der Weizenkeime bewirkten.

Es ergab sich also, daß die durch vergorene Zuckerlösungen bewirkte Verstärkung der Oxydationstätigkeit der Weizenkeime allem Anscheine nach weder der Milchsäure, noch den organischen, bzw. anorganischen Phosphorverbindungen zuzuschreiben ist.[1]) Eine weitere Prüfung der einzelnen möglichen Zwischenprodukte der Gärung habe ich vorläufig unterlassen; bei der gegenwärtigen, allzu lückenhaften Kenntnis des Chemismus der Gärung hieße es durchaus blindlings arbeiten. So erscheint z. B. eine Prüfung der Oxydation der Methylglyoxals wohl als voreilig, da die genannte Substanz den neueren Untersuchungen zufolge weder durch lebende Hefe,[2]) noch durch Acetondauerhefe[3]) vergoren wird. Auch ist es wohl möglich, daß das die vitale Oxydation der Weizenkeime befördernde intermediäre Produkt der Gärung eine so labile Substanz ist, daß es durch die üblichen Darstellungsmethoden in unverändertem Zustande nicht isoliert werden kann. Ein leicht zu oxydierender Körper ist meistens sehr dissoziationsfähig: Engler und Weißberg haben selbst den Satz aufgestellt: „Ohne Dissoziation keine Autoxydation."[4]) Diese Auseinandersetzungen zeigen, daß eine genauere Orientierung im Gebiete der physiologischen Zuckerverbrennung eine bessere Kenntnis der Zwischenphasen der Alkoholgärung erheischt.

Überblicken wir die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, so ist es ersichtlich, daß, obschon meine Versuchsmethoden an manchen unvermeidlichen Mängeln leiden und die erhaltenen Resulte hiernach nicht immer als einwandfrei nachgewiesen anzusehen sind, so wurde immerhin zuerst ein Einblick in das

---

[1]) Wie aus obiger Darlegung ersichtlich, ist diese Frage betreffs der P-haltigen organischen Substanz von Harden und Young und Iwanoff noch nicht endgültig gelöst.

[2]) Paul Mayer, diese Zeitschr. 2, 435, 1906.

[3]) Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 39, 3201, 1906.

[4]) Engler und Weißberg, Kritische Studien über die Vorgänge der Antoxydation, S. 49, Braunschweig 1904.

Wesen der vitalen Oxydation gewonnen. Es ergab sich nämlich, daß von den im Anfange der vorliegenden Abhandlung zusammengestellten theoretisch möglichen Voraussetzungen folgende sich als nicht stichhaltig erwiesen: die Annahme, daß die Alkoholgärung der Samenpflanzen von der Sauerstoffatmung vollkommen unabhängig ist, wurde dadurch widerlegt, daß in meinen Versuchen auch tüchtige Gärungserreger (Erbsensamen) bei tadelloser Aeration keine Alkoholbildung bewirkten; der Einwand, daß Erbsenzymase nur bei Sauerstoffabschluß wirksam ist, wurde aber bereits früher durch meine gemeinsam mit Palladin[1]) ausgeführten Untersuchungen beseitigt.

Auch ist die Voraussetzung wenig wahrscheinlich, daß Alkohol ein Zwischenprodukt der vitalen Zuckeroxydation ist. Abgeschälte Erbensamen konsumierten zwar langsam den vorher bei Luftabschluß gebildeten Alkohol, doch hatte der Alkoholverbrauch keine Steigerung der Atmungsenergie zur Folge. Weizensamen und Weizenkeime vermochten den Alkohol überhaupt nicht zu konsumieren; ebenfalls wurde die Atmungsenergie der genannten Objekte durch die Gegenwart des Alkohols nicht gesteigert; diese Versuche sind um so überzeugender, als Glukosegabe die Kohlensäureabscheidung der Weizenkeime stark beförderte; es ist also ersichtlich, daß Alkohol kein Zwischenprodukt der Oxydation der Glukose ist, denn Zwischenprodukte werden energischer verarbeitet, als das ursprüngliche Material. Das Auftreten geringer Alkoholmengen in verschiedenen Samenpflanzen bei Luftzutrit[2]) ist hiernach in der Weise zu deuten, daß ein Bruchteil der durch Zymase gespaltenen Zuckermoleküle bei Überwiegen der primären Spaltungsprozesse nicht momentan durch oxydierende Faktoren angegriffen und infolgedessen zu Alkohol und Kohlensäure verarbeitet wird. Alkohol ist also ein Nebenprodukt der Atmung, und das Vorfinden geringer Spuren dieser Substanz in Rebenblättern und anderen Pflanzen bei Luftzutritt ist ein Beweis dafür, daß Zymase am Atmungsprozesse tatsächlich beteiligt ist.

---

[1]) Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 214, 1906.

[2]) Berthelot, Compt. rend. 128, 1366, 1899; Mazé ebenda, 128, 1608, 1899; Devaux, Mémoires de la soc. des sciences physiques et natur. Bordeaux 1890, 15 juin; Compt. rend. 128, 1346, 1899.

Es bleibt also nur die Annahme übrig, daß die intermediären Produkte der Alkoholgärung im Atmungsprozesse oxydiert werden. Diese Voraussetzung gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit, daß die in durch Zymin vergorenen Glukoselösungen eingeweichten Keime eine bedeutend größere Atmungsenergie aufwiesen, als die in Wasser oder gar in nicht vergorenen Glukoselösungen eingeweichten Keime. Eine nähere Untersuchung ergab, daß die Einwirkung vergorener Glukoselösungen weder der Milchsäure noch den organischen bzw. anorganischen Phosphaten zuzuschreiben ist. Ein direkter Nachweis der Anteilnahme der Zwischenprodukte der Alkoholgärung an der Sauerstoffatmung kann einstweilen aus dem Grunde nicht geliefert werden, das unsere Kenntnis der Zwischenphasen der Alkoholgärung eine noch äußerst unzureichende ist. Glücklicherweise hat gegenwärtig diese an und für sich so wichtige Frage ein allgemeines Interesse auf sich gelenkt; die Aufklärung des Chemismus der Alkoholgärung wird vielleicht auch Anhaltspunkte bieten für die Lösung der nicht minder wichtigen Frage nach der Oxydation des Zuckers im Atmungsprozesse.

Untersuchungen über Adsorption.

Von

Leonor Michaelis und Peter Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 1. Dezember 1908.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Einleitung.

Beim Aufbau der lebenden Organismen ist eins der auffälligsten Prinzipien die ungeheure Entwicklung der Oberflächen. Überall, wo zwei Phasen sich berühren, geschieht das mit einer außerordentlich großen Berührungsfläche. Schon die Körperflüssigkeiten an sich sind als kolloidale Lösungen mikroheterogene Systeme (Bredig), in denen durchweg eine festere Phase in einer flüssigeren mit enormer Oberflächenentwicklung zerteilt ist. Die Zelle, ein durch eine wohl charakterisierte Oberfläche gegen außen abgegrenztes chemisches System, wächst nicht als einzelnes Individuum, sondern teilt sich während des Wachstums fortwährend, indem sie dadurch die Oberfläche der gesamten Zellsubstanz relativ viel rascher vermehrt als die Masse; alle Scheidewände, welche von epithelialen, regelmäßig gereihten Zelloberflächen gebildet werden, sind vermöge des Entwicklungsprinzips der Ein- und Ausstülpung mit enormen Oberflächen ausgestattet. Das hat einerseits die physiologische Bedeutung, daß der chemische Austausch zwischen den verschiedenen Phasen, aus denen der Organismus besteht, gefördert wird, und in diesem Sinne ist das Prinzip der Oberflächenausdehnung schon lange gedeutet worden. Aber außerdem ist eine jede Oberfläche an sich der Sitz einer besonderen Energie, deren Bedeutung für

den Haushalt der Organismen heute noch nicht richtig eingeschätzt werden kann, weil es noch an den nötigen experimentellen und theoretischen Grundlagen fehlt. Die in der Oberfläche sitzenden Kräfte mit all ihren Folgen sind von Physikern und Chemikern noch nicht so weit erforscht, daß es nur der Nutzanwendung auf die Biologie bedürfte. Es war für uns deshalb eine reizvolle Aufgabe, zu dem Kapitel der Oberflächenwirkungen einige Beiträge zu liefern.

Eine der wichtigsten Eigenschaften der Oberflächen ist es, gelöste Stoffe zu adsorbieren. Es ist sicher, daß diese Eigenschaft der Oberflächen auf verschiedenen Ursachen beruhen und verschiedenartigen Energieformen entspringen kann, die in der Oberfläche ihren Sitz haben. Auf der einen Seite sind dies mechanische Kräfte, die sich einerseits in dem Bestreben, die Oberfläche nach Möglichkeit zu verkleinern, andererseits in der Ausbildung eines unter höherem Druck stehenden Flüssigkeitshäutchens an der Oberfläche geltend machen. Ferner ist aber gewöhnlich die Oberfläche, die Trennungsfläche zweier Phasen, auch der Sitz einer elektrischen Potentialdifferenz, und schließlich besitzt die Oberfläche auch die rein chemischen Eigenschaften, die der sie bildende Stoff überhaupt besitzt, und daher können auch rein chemische Vorgänge in der Oberfläche vor sich gehen.

Zu wiederholten Malen machten wir von der Erscheinung der Adsorption methodologischen Gebrauch und machten dabei wahrscheinlich, daß die von uns angewandten Adsorptionen mit rein mechanischen Oberflächenadsorptionen nicht identisch seien, sondern daß der elektrochemische Charakter des Adsorbens und der adsorbierbaren Substanz eine bedeutsame Rolle spielte. Wir werden weiterhin noch zeigen, daß die damals von uns benutzten Stoffe die Fähigkeit der mechanischen Adsorption überhaupt kaum besitzen, so daß ihre Fähigkeit, Eiweiß, Albumosen, Fermente, Farbstoffe zu adsorbieren, nicht ihrem mechanischen Adsorptionsvermögen zugeschrieben werden kann. Im Gegensatz zu diesen Beispielen ist es aber auch geboten, sich mit der echten mechanischen Adsorption genauer zu befassen. Hier bestehen von biologischer Seite noch manche Unklarheiten. Es wird mitunter von einer „Adsorption" schlechtweg (und damit ist stets mechanische Adsorption gemeint) der anorgani-

schen Salze gesprochen, während diese doch im allgemeinen überhaupt auf mechanischem Wege einer positiven Adsorption nicht unterliegen können, weil sie die Oberflächenspannung des Wassers nicht vermindern, sondern erhöhen.

Wie nämlich Willard Gibbs[1]) zuerst auf rein theoretischem Wege ermittelt hat, wird ein Körper, der die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt und sie mit steigender Konzentration immer mehr erniedrigt, sich an der Oberfläche des Wassers anreichern, d. h. von der Trennungsfläche der Phasen adsorbiert werden. Die Oberfläche ist der Sitz einer Kraft, der Oberflächenspannung, deren Produkt in der Größe der Oberfläche die Oberflächenenergie Ostwalds darstellt. Diese sucht sich, wie eine potentielle Energie, stets zu verkleinern. Das kann sie entweder, indem die Oberfläche, oder indem die Oberflächenspannung sich verkleinert. Beim Schütteln von adsorbierenden Pulvern, wie Kohle, Kaolin u. dgl., ist die Möglichkeit der Verkleinerung der Oberfläche kaum gegeben. Dies würde geschehen, wenn benachbarte feste Teilchen durch Aneinanderlegen mit möglichst großen Flächen miteinander verschmölzen. Bei wenig starren, deformierbaren, „klebrigen“ Substanzen kann eine solche Verklebung auch wirklich eintreten und wird als Agglutination bezeichnet. Bei starren Substanzen mit unregelmäßig geformten Oberflächen kann eine irgendwie erhebliche Verkleinerung der Oberfläche durch Berührung benachbarter Teilchen kaum eintreten. Hier kommt also im wesentlichen in Betracht, daß die Oberflächenspannung sich verkleinert. Wenn nun in der Lösung sich ein Stoff befindet, der bei weiterer Anreicherung in der Oberfläche die Spannung der Oberfläche herabsetzen würde, so muß diese Anreicherung in der Oberflächenschicht auch wirklich eintreten. Der unbeschränkten Anreicherung in der Oberfläche steht aber das dadurch immer stärker werdende osmotische Druckgefälle entgegen, welches ja die Konzentration einer Lösung überall gleichzumachen bestrebt ist. Unter der Wirkung dieser beiden Kräfte stellt sich daher ein stationärer Zustand her, der nach seiner Entstehung nur ein dynamisches Gleichgewicht sein kann und

---

[1]) Gibbs, Thermodynam. Studien, Deutsch von Ostwald; Leipzig 1892.

unbedingt zur Folge hat, daß die dadurch hervorgerufene Adsorption völlig reversibel ist.[1])

Die große theoretische Bedeutung der Adsorptionsvorgänge, die früher ganz vernachlässigt wurden, ist schon von Ostwald in seinem Lehrbuche klar erkannt worden. Die ausgedehnteste experimentelle Studie über die Adsorption nunmehr auf Grund des Gibbsschen Theorems ist die Arbeit von Freundlich[2]). In Übereinstimmung mit der Theorie findet sich, daß in der Tat nur solche Stoffe der mechanischen Adsorption unterliegen, welche die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen, während bei Substanzen, welche wie ClNa die Oberflächenspannung erhöhen, aus ähnlichen Erwägungen eine „negative Adsorption" zu erwarten war und von Lagergreen[3]) experimentell bestätigt wurde, wenn auch nur in sehr geringem Maße: derartige Stoffe werden von der Kohle abgestoßen und sollen sich sogar in der Lösung ein wenig anreichern.[4]) Dagegen zeigen die in Literatur vorliegenden Angaben,[5]) daß die positiv adsorbierbaren Substanzen die Oberflächenspannung des Wassers sämtlich herabsetzen.

Was nun die analytische Formulierung des Adsorptionsgleichgewichts betrifft, so scheitert die Durchführung einer

---

[1]) Statt dieser Auffassung ist noch eine zweite möglich. Da die Oberflächenschicht einer Flüssigkeit ein unter hohem Druck stehendes Häutchen ist, so muß sich (nach einer von Lagergreen stammenden, von Freundlich klarer ausgeführten Theorie) ein gelöster Stoff in der Oberflächenschicht anreichern, wenn er die Kompressibilität der Flüssigkeit erhöht. Es hat sich durch die Untersuchungen von Röntgen und Schneider (Wiedem. Ann. 29, 165, 1886), A. Ritzel (Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 319, 1907), Th. W. Richards und J. H. Mathews (Zeitschr. f. physikal. Chem. 61, 449, 1908) herausgestellt, daß die beiden Eigenschaften eines Stoffes, die Oberflächenspannung des Wassers zu erniedrigen, und die Kompressibilität des Wassers zu erhöhen, immer parallel gehen. Daher ist es gleichgültig, ob man die Adsorption aus der einen oder anderen Eigenschaft heraus erklärt.

[2]) H. Freundlich, Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 385, 1907.

[3]) Lagergreen, Bihang till K. Sv. Vet. Akad. Handl. 24, Abt. II, 1898.

[4]) Vgl. jedoch hierzu E. Tezner und J. Roska Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 495, 1908.

[5]) Vgl. J. Traube, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. 17, 2294, 1884; Journ. f. prakt. Chem. 31. 177, 1887.

solchen daran, daß wir im allgemeinen die Oberflächenspannung nicht als Funktion der Konzentration des gelösten Stoffes darstellen können. Wir sind deshalb auf mehr oder weniger empirische Gleichungen angewiesen. Solcher Formeln haben sich zwei bewährt. Die ältere, zuerst von Küster gefundene und häufig angewandte Formel ist

$$\frac{x}{m} = k \cdot \left(\frac{a - x}{v}\right)^{\frac{1}{p}} \tag{1}$$

a ist die Gesamtmenge der adsorbierbaren Substanz, x die adsorbierte Menge derselben, $a - x$ also die in Lösung zurückbleibende Menge; m die Menge des Absorbens, v das Volumen der Lösung; k und p sind Konstanten. Der Wert von k ist vom Zerteilungsgrade des Adsorbens abhängig, er ist von der Gesamtoberfläche der Gewichtseinheit des Adsorbens, ferner von der Größe der Oberflächenspannung der Flüssigkeit gegen das Adsorbens abhängig. p ist bei konstanter Temperatur für jede Substanz charakteristisch, in der Regel aber ist $\frac{1}{p}$ um 0,5, selten kleiner als 0,2, selten größer als 0,8.

Die zweite, in gewissem Sinne rationell begründete Formel von Freundlich ist

$$\frac{v}{m} \ln \frac{a}{a - x} = \alpha \cdot \left(\frac{a}{v}\right)^{-\frac{1}{n}} \tag{2}$$

Durch Reihenentwickelung gehen beide Gleichungen näherungsweise ineinander über, wenn man die höheren Glieder der Reihen vernachlässigt und wenn $\frac{1}{p}$ nicht allzu verschieden von $\frac{1}{2}$ ist. Dann ist $\frac{1}{p} = 1 - \frac{1}{n}$. Von der Konstante α gilt ähnliches wie von k.

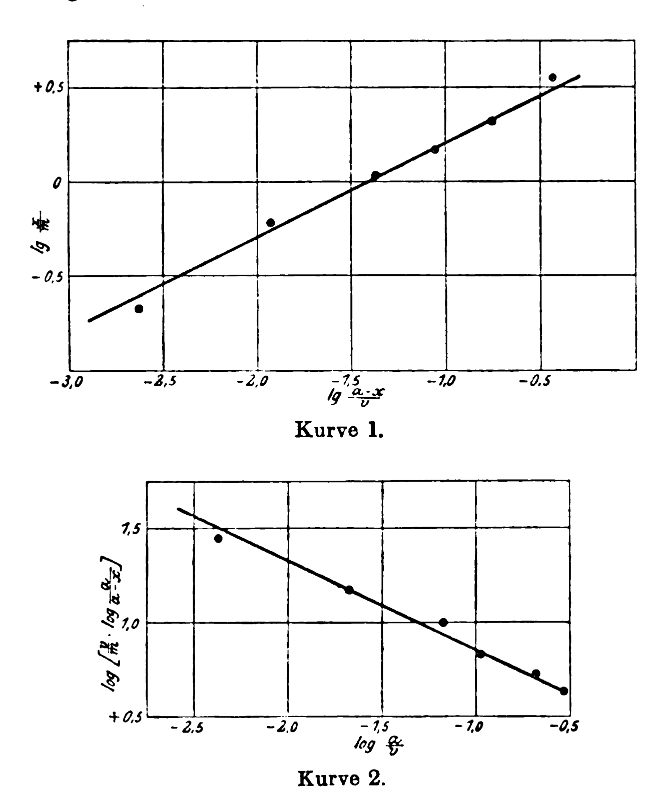
Beide Formeln decken sich mit der Beobachtung recht gut. Durch Logarithmieren gehen beide in lineare Funktionen über:

$$\lg \frac{x}{m} = \frac{1}{p} \cdot \lg \left(\frac{a - x}{v}\right) + \lg k \tag{3}$$

und

$$\lg \left[\frac{v}{m} \cdot \ln \frac{a}{a - x}\right] = -\frac{1}{n} \lg \frac{a}{v} + \lg \alpha \tag{4}$$

Wenn man also gemäß der Gleichung (3) $\lg \frac{a-x}{v}$ als Abszisse und $\lg \frac{x}{m}$ als Ordinaten in ein rechtwinkliges Koordinatensystem einträgt, so stellen die Endpunkte der Ordinaten eine schräg verlaufende Gerade dar, deren Neigung gegen die Abszisse ein Maß für den Exponenten $\frac{1}{p}$ darstellt, indem dieser gleich der Tangente des Neigungswinkels ist. Die Gültigkeit dieser Formeln ist an vielen Beispielen erwiesen, und wir möchten dem nur ein Beispiel hinzufügen, nämlich die Adsorption des Acetons durch Kohle,[1]) weil wir von dieser Substanz weiterhin noch ausgedehnten Gebrauch machen werden.



Kurve 1.

Kurve 2.

[1]) Verwendet wurde stets das Mercksche Präparat Carbo sanguin. pro analysi. Das Aceton wurde als Jodoform titrimetrisch bestimmt.

Tabelle 1. (Temp. = 18°.)

	Gesamtmenge Aceton in Millimol	Volumen der Lösung in ccm	Menge der Kohle in g	Nicht adsorbierte Menge Aceton in Millimol
	a	v	m	$a - x$
1	0,421	100	0,8987	0,234
2	2,103	100	1,0320	1,465
3	5,257	100	1,0688	4,103
4	10,503	100	1,0951	8,862
5	20,345	100	1,2425	17,759
6	30,517	100	1,2556	26,897

Kurve 1 und 2.

$$\frac{x}{m} = k\left(\frac{a-x}{v}\right)^{\frac{1}{p}}$$

$$k = 5{,}12; \ \frac{1}{p} = 0{,}52$$

$$\frac{v}{m}\,{}^{10}\log\frac{a}{a-x} = \alpha\left(\frac{a}{v}\right)^{-\frac{1}{n}}$$

$$\alpha = 2{,}74; \ \frac{1}{n} = 0{,}444$$

Vgl. Kurve 1.

	$\frac{x}{m}$ beobachtet	berechnet
1.	0,208	0,219
2.	0,618	0,569
3.	1,075	1,028
4.	1,499	1,452
5.	2,081	2,082
6.	2,882	2,589

Vgl. Kurve 2.

$\frac{v}{m}\lg\frac{a}{a-x}$ beobachtet	berechnet
28,4	30,35
15,22	15,21
10,01	10,12
6,74	7,45
5,33	5,55
4,63	4,37

$$\frac{1}{p} + \frac{1}{n} = \text{gef. } 0{,}964, \text{ ber. } 1{,}00.$$

II. Die Adsorption in Gemischen.

Die Erscheinungen der Adsorption sind bisher nur an einfachen Lösungen reiner Substanzen studiert worden; wenn wir aber einen Nutzen für biologische Anschauungen haben wollen, so müssen wir uns Verhältnissen zuwenden, wie sie unter biologischen Bedingungen vorkommen und mit Gemischen verschiedener adsorbierbarer Stoffe arbeiten. Dabei wollen wir zunächst nur binäre Gemische betrachten und solche Stoffe wählen, bei denen es sicher steht, daß ihre Adsorption nur durch die Wirkung der Oberflächenspannung stattfindet und elektrische und chemische Vorgänge ausgeschlossen sind.

Zunächst muß gezeigt werden, daß auch in solchen Fällen das Adsorptionsgleichgewicht ein dynamisches ist und die Adsorption in reversibler Weise vor sich geht. Man kann das auf folgende Weise feststellen. Wenn man die beiden adsorbierbaren Stoffe entweder auf einmal oder in beliebigen Zwischenräumen und in beliebiger Reihenfolge nacheinander zugibt, so muß, wenn Reversibilität besteht, der definitive Zustand in allen Fällen derselbe sein. Das bestätigt sich nun in der Tat:

Tabelle 2.

Je 2,1005 Millimol Aceton werden in aufsteigender Reihe mit 8,65 Millimol (Versuch I und Ia), mit 17,3 Millimol (Versuch II und IIa) und mit 24,6 Millimol (Versuch III und IIIa) Essigsäure zusammen in 50 ccm Gesamtvolumen der Flüssigkeit mit je 1 g Kohle geschüttelt.[1]) In Parallelversuchen wurde einmal in einer Reihe zuerst das Aceton, dann am nächsten Tage die entsprechenden Mengen Essigsäure dem Gemisch zugefügt (Versuch I, II, III), und in einer zweiten Reihe zuerst die entsprechenden, aufsteigenden Essigsäuremengen und erst am nächsten Tage die Acetonmengen zusammengebracht (Versuch Ia, IIa, IIIa).

Wiedergefunden wurden von Aceton im Filtrat

im Versuch	I	1,81	Millimol	im Versuch	Ia	1,85	Millimol
„ „	II	1,90	„	„ „	IIa	1,89	„
„ „	III	1,92	„	„ „	IIIa	1,95	„

Ergebnis:

Das Endresultat der Adsorption des Acetons in dem Gemisch mit der Essigsäure ist unabhängig davon, ob dieses vor oder nach der Essigsäure zugegeben wird.

Versuchen wir uns nun ein Bild davon zu machen, wie die gegenseitige Beeinflussung der beiden Stoffe sich voraussichtlich gestalten wird. Von einer analytischen Formulierung des Gleichgewichtes in Gemischen kann noch weniger die Rede sein als von der einer einfachen Lösung. Aber der Sinn dieser Beeinflussung läßt sich auf folgende Weise überblicken. Nehmen wir an, es werde eine Lösung von Aceton und Essigsäure in Wasser mit Kohle geschüttelt. Man könnte zunächst denken, daß die Adsorption des einen Stoffes durch die Gegenwart des anderen gar nicht gestört werde. Das ist aber wenig wahrscheinlich. Denn angenommen, zu einem im Adsorptionsgleich-

[1]) Bezüglich der Zeit des Schüttelns, der Entnahme der Proben folgten wir im wesentlichen den Vorschriften Freundlichs (l. c.).

gewicht befindlichen Gemisch von Essigsäurelösung und Kohle werde Aceton zugegeben. Die Ursache für die nunmehr eintretende Adsorption des Acetons ist der Umstand, daß das Aceton auf die Oberflächenspannung der ganzen Lösung erniedrigend wirkt, wenn es adsorbiert wird. Die Kraft, mit der diese Adsorption in Gang gesetzt wird, ist um so größer, je kleiner die im denkbar äußersten Grenzfalle durch die Adsorption erreichbare Oberflächenspannung im Vergleich zu der vor der Adsorption gegebenen Oberflächenspannung ist. Da nun in dem Fall, wo schon vorher Essigsäure zugegen ist, die ursprüngliche Oberflächenspannung schon geringer ist als ohne die Essigsäure, so wird die Kraft, welche die Adsorption des Acetons einleitet, bei Gegenwart von Essigsäure geringer sein als ohne diese. Die gleiche Betrachtung läßt sich aber auch bei umgekehrter Versuchsanordnung anwenden; wenn zu einem im Gleichgewicht befindlichen System von Acetonlösung und Kohle Essigsäure zugegeben wird, so wird die Essigsäure weniger energisch adsorbiert werden als ohne Gegenwart von Aceton. Es müssen im allgemeinen also zwei adsorbierbare Stoffe sich gegenseitig in ihrer Absorbierbarkeit beschränken. Dafür seien erst einige experimentelle Beispiele gegeben.

Tabelle 3.

Versuch 1. Im Versuch Tabelle 2 war die in der Flüssigkeit wiedergefundene Acetonmenge (Gesamtvolumen der Flüssigkeit 50 ccm, Kohlenmenge 1 g) bei Abwesenheit von Essigsäure 1,41 Millimol (von 2,1005 Millimol), bei Gegenwart von steigenden Mengen Essigsäure, bzw. 1,81, 1,90, 1,93 Millimol.

Tabelle 4.

Gesamtmenge Aceton in Millimol	Essigsäure in Millimol	Volumen der Gesamtflüssigkeit in ccm	Kohle in g	Wiedergefundene Menge Aceton in Millimol	Wiedergefundene, d. h. nicht adsorbierte Menge Aceton in % der Gesamtmenge
Versuch 2.					
1,96	0	50	0	1,96	100
1,96	0	50	1,00	1,06	53,06
1,96	8,15	50	1,00	1,59	81,12
1,96	48,90	50	1,00	1,69	86,22

Gesamtmenge Aceton in Millimol	Essigsäure in Millimol	Volumen der Gesamtflüssigkeit in ccm	Kohle in g	Wiedergefundene Menge Aceton in Millimol	Wiedergefundene, d. h. nicht adsorbierte Menge Aceton in $^0/_0$ der Gesamtmenge
Versuch 3.					
1,96	0	50	0	1,96	100
1,96	0	50	1,00	1,05	53,57
1,96	8,50	50	1,00	1,45	74,59
1,96	17,00	50	1,00	1,54	78,57
Versuch 4.					
2,02	0	50	0	2,02	100
2,02	0	50	1,00	1,16	57,42
2,02	8,50	50	1,00	1,45	71,28
2,02	17,00	50	1,00	1,51	74,75
2,02	34,00	50	1,00	1,65	81,18
2,02	42,50	50	1,00	1,70	84,15
Versuch 5.					
9,76	0	50	0	9,76	100
9,76	0	50	1,00	7,46	76,4
9,76	8,55	50	1,00	7,96	81,5
19,52	0	50	0	19,52	100
19,52	0	50	1,00	16,60	85,0
19,52	8,55	50	1,00	16,40	84,0
39,04	0	50	0	39,04	100
39,04	0	50	1,00	34,04	87,1
39,04	8,55	50	1,00	34,00	87,0
Versuch 6.					
0,209	0	50	0	0,209	100
0,209	0	50	1,00	0,080	38,2
0,209	8,55	50	1,00	0,148	70,8
0,209	17,10	50	1,00	0,154	73,6
0,209	34,20	50	1,00	0,166	79,4
Versuch 7.					
0,41	0	100	0	0,41	100
0,41	0	100	1,00	0,11	26,7
0,41	0,35	100	1,00	0,16	38,0
2,05	0	100	0	2,05	100
2,05	0	100	1,00	0,98	47,8
2,05	1,75	100	1,00	1,23	60,00
4,10	0	100	0	4,10	100
4,10	0	100	1,00	1,16	28,29
4,10	3,50	100	1,00	1,44	35,12

Gesamtmenge Aceton in Millimol	Essigsäure in Millimol	Volumen der Gesamtflüssigkeit in ccm	Kohle in g	Wiedergefundene Essigsäure in Millimol	Wiedergefundene Essigsäure in % der Gesamtmenge
		Versuch 8.			
0	8,50	50	0	8,50	100
0	8,50	50	1,00	6,76	79,5
1,96	8,50	50	1,00	6,95	81,7
0	17,00	50	0,00	17,00	100
0	17,00	50	1,00	14,56	85,6
1,96	17,00	50	1,00	15,10	88,8
		Versuch 9.			
0	8,50	50	0	8,50	100
0	8,50	50	1,00	6,10	71,8
2,02	8,50	50	1,00	6,11	71,8
0	17,00	50	0	17,00	100
0	17,00	50	1,00	14,92	87,7
2,02	17,00	50	1,00	14,96	88,0
0	34,00	50	0	34,00	100
0	34,00	50	1,00	31,20	91,1
2,02	34,00	50	1,00	31,40	92,1
		Versuch 10.			
0	8,50	50	0	8,50	100
0	8,50	50	1,00	6,77	79,6
2,02	8,50	50	1,00	7,20	84,7
4,04	8,50	50	1,00	7,25	85,2
8,04	8,50	50	1,00	7,45	87,7
10,10	8,50	50	1,00	7,40	87,1
		Versuch 11.			
0	8,55	50	0	8,55	100
0	8,55	50	1,00	6,77	79,6
9,76	8,55	50	1,00	7,40	86,5
19,52	8,55	50	1,00	7,70	90,0
39,04	8,55	50	1,00	7,85	91,7
		Versuch 12.			
0	0,175	50	0	0,175	100
0	0,175	50	1,00	0,017	9,7
1,96	0,175	50	1,00	0,080	45,7
3,92	0,175	50	1,00	0,110	62,9
7,84	0,175	50	1,00	0,133	76,5

Gesamtmenge Aceton in Millimol	Essigsäure in Millimol	Volumen der Gesamtflüssigkeit in ccm	Kohle in g	Wiedergefundene Essigsäure in Millimol	Wiedergefundene Essigsäure in % der Gesamtmenge
			Versuch 13.		
0	0,35	100	0	0,35	100
0	0,35	100	1,00	0,073	20,9
0,41	0,35	100	1,00	0,099	28,3
0	1,75	100	0	1,75	100
0	1,75	100	1,00	0,78	44,0
2,05	1,75	100	1,00	0,92	52,0
0	3,50	100	0	3,50	100
0	3,50	100	1,00	1,86	53,0
4,10	3,50	100	1,00	2,28	65,1

Betrachten wir also das von uns untersuchte binäre Gemisch von Essigsäure und Aceton, so sehen wir, daß der „verdrängende" Einfluß, den die Essigsäure auf eine gegebene Menge Aceton hat, um so größer ist, je mehr Essigsäure zugegeben wird; und der verdrängende Einfluß von Aceton auf eine gegebene Menge Essigsäure ist wieder um so größer, je mehr Aceton zugegen ist. Die verdrängende Wirkung, wie die Adsorption selbst, wächst mit zunehmender Substanzmenge zunächst bedeutend, dann immer weniger.

Wenn man den verdrängenden Einfluß äquivalenter Mengen verschiedener Stoffe auf eine bestimmte Menge eines anderen Stoffes vergleicht, so findet man im allgemeinen, daß ein Stoff um so energischer verdrängt, je stärker er erniedrigend auf die Oberflächenspannung des Wassers wirkt. Stoffe, welche keinen oder nur einen unbedeutenden Einfluß auf die Oberflächenspannung haben, verdrängen auch andere Stoffe nicht merklich. So haben im allgemeinen die Neutralsalze nur wenig Einfluß auf die Adsorption von Essigsäure. Ja es scheint sogar, daß die Salze, welche die Oberflächenspannung merklich erhöhen, wie ClNa, die Adsorption von Essigsäure ein wenig erhöhen.

Stoffe, wie Salzsäure, die selber nur schwach adsorbiert werden, haben auch nur einen geringen verdrängenden Einfluß auf die Adsorption des Acetons:

Tabelle 5.

Essigsäure in Millimol	Kochsalz in Millimol	Gesamtmenge Flüssigkeit in ccm	Kohle in g	Wiedergefundene Menge Essigsäure in Millimol	Wiedergefundene Menge Essigsäure in % der Gesamtmenge
0,53	0	50	0	0,530	100
0,53	0	50	1,00	0,150	28,30
0,53	2,0	50	1,00	0,150	28,30
0,53	20,0	50	1,00	1,135	25,47
0,53	40,0	50	1,00	1,125	21,22
0,53	60,0	50	1,00	0,125	21,22
0,53	80,0	50	1,00	0,125	21,22
	Natriumsulfat in Millimol				
0,53	0	50	1,00	0,150	28,3
0,53	10,0	50	1,00	0,140	26,4
0,53	20,0	50	1,00	0,155	29,2

Tabelle 6.

Aceton in Millimol	Salzsäure in Millimol	Gesamtvolumen in ccm	Kohle in g	Aceton wiedergewonnen in Millimol	Aceton wiedergewonnen in %
3,6	0	100	0	3,6	100
3,6	0	100	2	2,3	63,88
3,6	1	100	2	2,4	66,66
3,6	10	100	2	2,6	72,22
3,6	50	100	2	2,7	75,00
3,6	90	100	2	2,9	80,55
				Salzsäure wiedergefunden in Millimol	Salzsäure wiedergefunden in %
0	90	100	0	90,0	100
0	90	100	2	87,2	96,88
3,6	90	100	2	87,6	97,66
0	10	100	0	10,00	100
0	10	100	2	9,00	90
3,6	10	100	2	8,90	89
0	1	100	0	1,00	100
0	1	100	2	0,36	36
3,6	1	100	2	0,45	45

Tabelle 7.

Essigsäure in Millimol	$^1/_{100}$ Mol von	Gesamtvolumen ccm	Kohle g	Zurückgewonnene Essigsäure	Zurückgewonnene Essigsäure in %
0,53	0	50	0	0,53	100
0,53	0	50	1,00	0,18	33,96
0,53	Methylalkohol	50	1,00	0,20	37,74
0,53	Äthylalkohol	50	1,00	0,26	49,06
0,53	Propylalkohol	50	1,00	0,34	64,15
0,53	Amylalkohol	50	1,00	0,45	84,91

Wenn man die verdrängende Wirkung äquivalenter Mengen der homologen Alkohole auf eine gegebene Menge Essigsäure miteinander vergleicht (Tab. 7), so findet man eine starke Zunahme, indem man in der Reihe der homologen Alkohole aufsteigt; während der Methylalkohol in unserer Versuchsanordnung nur von geringem Einfluß ist, verdrängt der Äthylalkohol schon merklich, Propylalkohol stärker und der Amylalkohol sehr bedeutend. Das stimmt mit der von J. Traube gefundenen Tatsache vorzüglich überein, daß die Oberflächenspannung äquivalenter Lösungen der homologen Reihen der Alkohole in Wasser von Glied zu Glied rapide abnimmt.

In anderen derartigen Reihen, in denen die Oberflächenspannung einem ähnlichen Gesetze unterliegt, konnte jedoch eine derartige Steigerung in dem Verdrängungsvermögen in der aufsteigenden homologen Reihe nur teilweise konstatiert werden.

Tabelle 8.

Essigsäure in Millimol	Zusatz	Gesamtvolumen ccm	Kohle g	Zurückgewonnene Essigsäure	Zurückgewonnene Essigsäure in %
1,06	0	100	2,0	0,39	33,69
1,06	$^1/_{200}$ Mol Äthylester	100	2,0	0,42	36,79
1,06	$^1/_{200}$ „ Propylester	100	2,0	0,45	42.83
1,06	$^1/_{200}$ „ Butylester	100	2,0	0,45	42,83
1,06	$^1/_{200}$ „ Amylester	100	2,0	0,45	42,83

III. Die Adsorption eiweißartiger Substanzen.

Von besonderem biologischem Interesse ist nun die Adsorption eiweißartiger Substanzen. Durch viele alte Beobachtungen, systematisch aber zuerst durch die Untersuchungen von Landsteiner und Uhlirz[1]) und unsere eigenen Untersuchungen[2]) ist die Möglichkeit der Adsorption von Eiweiß und Albumosen erwiesen. Das Arbeiten mit dem genuinen Eiweiß erschwert aber das Studium der reinen Adsorptionserscheinungen dadurch, daß die Adsorption die Möglichkeit der Denaturierung des Eiweißes zu begünstigen scheint. Wenigstens wäre das eine Erklärung für die Tatsache, daß die Adsorption des Eiweißes durch Kohle, Kaolin usw. irreversibel ist. Die Ursache für die Denaturierung ist allerdings nicht ganz klar. Die bloße Konzentrierung des Eiweißes an der Oberfläche ist nicht Grund genug, denn man kann ja sogar trockenes Eiweiß herstellen, welches noch vollkommen wasserlöslich ist. Aber auch sonst besteht noch eine Unklarheit bei der Adsorption des Eiweißes. Dem Kaolin kommt kein sicher nachweisbares mechanisches Adsorptionsvermögen zu, offenbar, weil die Oberflächenspannung des Wassers gegen Kaolin sehr gering ist. Um so auffälliger ist es, daß es so leicht gelingt, durch Kaolin große Mengen Eiweiß zu adsorbieren.

Tabelle 8a.

Kaolin in g . . .	10	20	40	70	0
Aceton, Millimol .	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Gesamtvolumen . .	100	100	100	100	100
Wiedergefundenes Aceton	1,83	1,83	1,87	1,87	1,80

Der Versuch Tabelle 8a zeigt nämlich, daß selbst die enorme Menge von 70 g Kaolin aus einer Lösung von X Millimol Aceton in 100 ccm Wasser keine analytisch nachweisbare Menge Aceton fortnimmt, während doch die kleinsten Mengen Kohle schon merklich Aceton adsorbieren. Da bei der mechanischen Adsorption nur die Größe der Oberfläche und die Größe der daselbst herrschenden,



[1]) Centr. f. Bakt., 40, 265, 1905.

[2]) Diese Zeitschr. 2, 219; 3, 109; 4, 11, 1907.

von der Natur des Adsorbens abhängigen Grenzflächenspannung von Einfluß sein kann, muß die prinzipielle Ungleichwertigkeit von Koalin und Kohle bei einer weiteren mechanischen Adsorption wiederkehren. Versuche mit Essigsäureadsorption lehrten, daß das ohne Einschränkung richtig ist:

Tabelle 8b.

Kaolin in g	30
Essigsäure in Millimol	0,420
Volumen	100
Wiedergefundene Essigsäure[1])	0,420

Vergleichen wir nun aber die adsorbierende Kraft dieser beiden Adsorbenzien für Eiweiß. Wenn wir ein mit Essigsäure angesäuertes 10fach verdünntes Blutserum mit gerade so viel Adsorbens versetzen, daß das Filtrat eben praktisch eiweißfrei ist, so finden wir, daß dieser Effekt von 15 bis 20 g Kaolin oder von 7 bis 10 g Kohle erreicht wird. Hier ist also Kohle und Kaolin fast gleichwertig. Können wir das Adsorptionsvermögen eines Adsorbens gegen Aceton als einen Maßstab für sein mechanisches Adsorptionsvermögen betrachten, so folgt, daß das Adsorptionsvermögen des Kaolins gegen Eiweiß kein mechanisches ist, d. h. auf anderen Ursachen als der Oberflächenspannungsverminderung beruhen muß. Damit stimmt auch vorzüglich überein, daß Kaolin alle basischen, aber keinen sauren Farbstoff adsorbiert, sowie andere, von M. Heidenhain[2]) und Suida[3]) gegebene Beispiele.

Wir glauben auf Grund von Beobachtungen, die wir in früheren Arbeiten mitgeteilt haben, daß an Stelle der Oberflächenspannung die elektrische Potentialdifferenz an der Trennungsfläche der beiden Phasen das treibende Moment für die Adsorption ist. Dies wollen wir jedoch an dieser Stelle nur beiläufig bemerken. Weil aber überhaupt das Eiweiß die experimentell sehr un-

---

[1]) In diesem Versuch muß man beim Filtrieren das adsorbierende Vermögen des Filtrierpapieres ganz besonders berücksichtigen. Das Filtrat wurde in einzelnen Fraktionen von je 10 ccm aufgefangen und dies so lange fortgesetzt, bis der Titer des Filtrats sich nicht mehr änderte. In sämtlichen anderen Versuchen dieser Arbeit wurde diese Fehlerquelle durch Verwerfen der ersten Anteile des Filtrates ausgeschaltet.

[2]) Pflügers Archiv 90, 115, 1902.

[3]) Monatsh. f. Chem. 25, 1107, 1904; Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 174, 1907.

bequeme Möglichkeit der Denaturierung darbietet, welche den Verlauf des Prozesses sekundär stark verändern könnte, wenden wir uns experimentell zunächst lieber den nicht denaturierungsfähigen eiweißartigen Körpern, den Albumosen, zu.

Die Albumosen erniedrigen, wie J. Traube u. F. Blumenthal[1]) fanden, die Oberflächenspannung des Wassers in sehr bedeutendem Maße. Es ist daher theoretisch durchaus die Vorbedingung für ihre mechanische Adsorbierbarkeit gegeben. Wir werden deshalb untersuchen, wie sich die einzelnen Kriterien der mechanischen Adsorption in diesem Falle gestalten. Zu diesem Zwecke werden wir aber die Merkmale der mechanischen Adsorption uns vergegenwärtigen:

1. Die mechanische Adsorption führt zu einem echten Gleichgewicht. Um das nachzuweisen, werden die gleichen Mengen Albumosen einmal in viel, ein zweites Mal in wenig Wasser gelöst, dann beide Lösungen mit der gleichen Menge Kohle versetzt. Nach einer Weile wird das konzentriertere Gemisch mit Wasser auf das Volumen des anderen Gemisches gefüllt. Alsdann muß der definitiv erreichte Zustand in beiden Fällen der gleiche sein. In der Tat ist das der Fall.

Tabelle 9.

Versuch 1.

a) 100 ccm ca. 5 %ige Peptonlösung[2]) werden mit 2400 ccm Wasser versetzt, mit 2 g Kohle geschüttelt, dann 665 ccm abfiltriert. In dem Filtrat sind 0,0116 g Stickstoff.

b) 100 ccm derselben Peptonlösung werden mit 2 g Kohle geschüttelt, dann 2400 ccm Wasser hinzugefügt, 670 ccm abfiltriert. In dem Filtrat sind 0,0116 g Stickstoff.

Versuch 2.

a) 0,5 g Pepton werden in 2500 ccm Wasser gelöst mit 2 g Kohle geschüttelt. Im Gesamtfiltrat wurden gefunden 0,0190 g N.

b) 0,5 g Pepton in 100 ccm Wasser gelöst werden mit 2 g Kohle geschüttelt, auf 2500 ccm aufgefüllt. Im Gesamtfiltrat wurden gefunden 0,0195 g.

In Anbetracht der großen Unterschiede der Volumina (100 und 2500 ccm) sind die Unterschiede der gefundenen so gering, daß man von einem kaum bemerkbaren Einfluß des Volumens sprechen muß.

---

1) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 2, 117, 1895.

2) Pepton siccum Riedel.

Und doch ist dieses Kriterium in diesem Fall trügerisch. Es ist nämlich der Adsorptionsgrad der Albumosen unabhängig vom Volumen des Lösungsmittel. Von einer bestimmten Menge Albumosen wird durch eine gegebene Menge Kohle stets gleichviel adsorbiert, in wieviel Wasser man auch die Albumosen lösen mag. Zu irgendeiner gesetzmäßigen Formulierung sind diese Versuche allerdings nicht zu benutzen, weil die „Albumose" ein undefinierbares Gemisch ist.

Tabelle 10.

Versuch.

10 ccm einer ca. 0,5%igen Albumoselösung wurden mit Wasser auf 100 ccm verdünnt mit 2 g Kohle geschüttelt. Im Filtrat wiedergefunden: 0,0188 g N.

10 ccm ca. 0,5%ige Albumoselösung wurden mit Wasser auf 2500 ccm verdünnt, mit 2 g Kohle geschüttelt. Im Filtrat wiedergefunden: 0,0190 g N.

Daraus folgt aber, daß der oben angestellte Versuch in Tab. 9 nichts über die Art des Gleichgewichtes der Adsorption aussagt. In einer ähnlichen Lage befanden sich schon einmal Freundlich und Losev[1]), welchen der Nachweis des echten Gleichgewichtes der Adsorption der basischen Farbstoffe durch Kohle auch aus dem Grunde nicht einwandfrei gelang, weil das Volumen ohne merklichen Einfluß auf die Adsorption ist.[2])

2. Die mechanische Adsorption ist vollkommen reversibel. Wenn man die mit dem adsorbierten Stoff beladene Kohle mit genügenden Mengen reinen Wassers wäscht, kann man den adsorbierten Stoff wieder ganz ablösen. Nun kann man aber mit Albumosen beladene Kohle, Mastix, Eisenhydroxyd, Kaolin usw. mit jeder beliebigen Menge Wasser nachwaschen, ohne daß es gelingt, irgendwie nennenswerte Mengen der Albumosen wieder in Lösung zu bringen. Die Adsorption ist fast irreversibel.

---

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 59, 284, 1907; Losev, Diss., Leipzig 1907.

[2]) Das gleiche muß stets dann eintreten, wenn der Exponent $\frac{1}{p}$ der Gleichung (1) $= 0$ oder $\frac{1}{n}$ der Gleichung (2) $= 1$ ist; alsdann fällt das Volumen aus der Gleichung heraus.

Tabelle 11.

100 ccm einer ca. 0,1 $^0/_0$igen Peptonlösung (= 0,0111 g N) werden mit 1 g Kohle geschüttelt. Das Filtrat war praktisch stickstofffrei (gefunden in zwei Versuchen 0,0009 bzw. 0,0010 g N).

Der Kohlenrückstand wurde in 400 ccm Wasser aufgenommen, 6 Stunden in der Schüttelmaschine geschüttelt, filtriert. In 150 ccm Filtrat wurden gefunden 0,0001 g bzw. 0,0002 g N.

Der Kohlenrückstand wurde wieder in 400 ccm Wasser aufgenommen, mehrere Stunden in der Schüttelmaschine geschüttelt. In 150 ccm Filtrat wurden gefunden 0,0004 g N.

Die in den Waschwässern gefundenen N-Mengen sind so gering, daß sie die Fehlergrenzen der Methode kaum überschreiten. Immerhin deuten die Zahlen darauf hin, daß es wohl gelingen dürfte, durch sehr langes Waschen kleine Peptonmengen von der Kohle wieder abzulösen. Wenn wir nun bedenken, daß zur Erreichung des Gleichgewichtes bei der Adsorption der Albumosen durch Kohle wenige Sekunden genügen, so folgt aus unserer Beobachtung zum mindesten, daß das Gleichgewicht von beiden Seiten her mit sehr verschiedener Geschwindigkeit erreicht wird, daß also eine echte und vollkommene Reversibilität nicht vorliegt. Nun kommt allerdings eine zweite Schwierigkeit hinzu. Da ja, wie wir sahen, die Adsorption der Albumose von dem Volumen des Lösungsmittels fast unabhängig ist, liegt auch kein Grund vor, daß man durch Vermehrung des Waschwassers Albumose ablösen könne. Es handelt sich somit um ein ganz besonderes Gleichgewicht, das dem des Acetons in keiner Weise vergleichbar ist. In unserem Versuch war fast totale Adsorption der Albumose eingetreten. Es war also die mit der Albumose beladene Kohle in Gleichgewicht mit einer praktisch albumosefreien Lösung. Wenn aber das Gleichgewicht diese Bedingung hat, so kann man auch nicht erwarten, praktisch meßbare Mengen Albumose von der Kohle durch Wasser abzulösen.

Wir sehen, daß wir mit diesen Methoden, die Reversibilität der Peptonbindung nachzuweisen, nicht zu einem klaren und eindeutigen Resultat kommen. Wir legen deshalb auf die folgenden Methoden mehr Gewicht.

3. Ein durch mechanische Adsorption gebundener Stoff kann gemäß unseren oben beschriebenen Versuchen

durch genügende Mengen eines anderen, mechanisch adsorbierbaren Stoffes teilweise verdrängt werden. Wir versuchten also, ob aus einem Gemisch von Aceton und Albumosen etwa weniger Albumosen adsorbiert werden als aus einer reinen Albumosenlösung. Aber auch das ist nicht der Fall.

Tabelle 12.

Versuch.

10 ccm Peptonlösung (= 26,96 mg N) werden in aufsteigender Reihe mit bzw. 0 ccm, 5 ccm, 20 ccm, 40 ccm, 80 ccm 2 %igem Aceton versetzt, jede Probe auf 100 ccm aufgefüllt und mit 1 g Kohle geschüttelt. Im Filtrate wurden in den entsprechenden Proben bzw. folgende N-Werte gefunden: 7,32 mg, 7,23 mg, 6,50 mg, 6,26 mg, 7,00 mg.

Eher könnte man also sagen, daß durch den Zusatz von Aceton die Adsorption der Albumosen noch etwas erhöht wird; jedoch handelt es sich um so geringe Ausschläge, daß wir vorläufig keinen Wert auf diese Beobachtung legen möchten.

4. Ein durch mechanische Adsorption gebundener Stoff kann andere mechanisch adsorbierbare Stoffe von der Adsorption teilweise verdrängen. Wir versetzten also eine gegebene Acetonlösung mit Albumose so weit, daß das Filtrat praktisch frei blieb von Albumosen, um die Acetonbestimmung in demselben zu ermöglichen. Aber auch hier findet keine Verdrängung statt.

Tabelle 13.

Aceton in Millimol	0,1 %ige Peptonlösung ccm	Gesamtvolumen ccm	Kohle g	Aceton wiedergefunden in Millimol
1,96	0	100	1	0,98
1,96	95	100	1	1,00
3,92	0	100	1	2,90
3,92	90	100	1	2,75
7,84	0	100	1	6,00
7,84	80	100	1	6,20

Wenn wir nun ferner wiederholen, daß Albumosen in vorzüglicher Weise von Stoffen adsorbiert werden, welche weder Essigsäure noch Aceton noch einen anderen, die Oberflächenspannung erniedrigenden Stoff in irgendwie beträchtlicheren

Mengen adsorbieren, so wird es uns zur Gewißheit, daß die Adsorption der Albumosen nicht nur durch Kaolin, sondern wenigstens zum Teil auch durch Kohle, überhaupt ein von der rein mechanischen Adsorption wesensverschiedener Prozeß ist.

Sobald wir aber das erkannt haben, glauben wir auch ein Recht zu haben, diese Anschauungen auch auf die Adsorption des eigentlichen Eiweißes zu übertragen. Wir versuchten oben die Irreversibilität der Eiweißadsorption mit vorläufiger Deutung auf eine möglicherweise bei der Adsorption eintretende Denaturierung des Eiweißes zurückzuführen, ohne uns genau über die Ursache der Denaturierung Rechenschaft geben zu können. Nachdem wir aber erfahren haben, daß die Irreversibilität sich bei den nicht denaturierbaren Albumosen wiederfindet, haben wir keinen Anlaß mehr zu dieser besonderen Annahme, sondern werden vielmehr versuchen, beide Erscheinungen gemeinschaftlich zu deuten. Der Versuch dieser Deutung soll jedoch jetzt noch nicht gemacht werden; es genügt uns, vorläufig festgestellt zu haben, daß die Gesetze der mechanischen Adsorption für die Adsorption der eiweißartigen Substanzen nicht gelten.

Zusammenfassung.

Es wird der gegenwärtige Stand der Theorie der mechanischen Adsorption im wesentlichen auf Grund der Theorie von Gibbs und Freundlich entwickelt: alle diejenigen Stoffe werden adsorbiert, welche die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen.

Es wird gezeigt, daß in Gemischen zweier adsorbierbarer Substanzen eine gegenseitige Beschränkung der Adsorption eintritt.

Es wird gezeigt, daß die eiweißartigen Körper, wie auch z. B. die Farbstoffe, auch von solchen Oberflächen adsorbiert werden, welche wegen mangelnder Grenzflächenspannung überhaupt kein mechanisches Adsorptionsvermögen besitzen. Diese nicht mechanische Adsorption wird, ohne diesen Gedanken vorläufig auszuführen, mit elektrischen Eigenschaften der Oberfläche in Zusammenhang gebracht. Es werden weitere Unterschiede zwischen der mechanischen Adsorption und der Adsorption der eiweißartigen Körper aufgedeckt.

Bemerkung zu der Mitteilung von Resenscheck in Bd. 15, S. 1 dieser Zeitschrift.

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Eingegangen am 13. Dezember 1908.)

Die soeben erschienene interessante Mitteilung von Resenscheck veranlaßt uns, über eigene, früher angestellte Adsorptionsversuche kurz zu berichten, die wir mit Zymase anstellten. An sich betrachteten wir unsere Versuche als zu wenig abgeschlossen, um sie schon zu publizieren. Wir kamen nämlich aus ähnlichen Gründen wie Resenscheck bald zu der Überzeugung, daß bei der Zymase das Koenzym einen komplizierenden Faktor darstelle, der die Untersuchungen schwieriger mache als bei einfachen Fermenten und schoben deshalb zunächst die weitere Untersuchung auf, auch weil wir es für notwendig hielten, vorher prinzipielle Fragen der Adsorptionsmethode zu klären. (Vgl. darüber unsere Arbeit S. 196.) Jetzt aber, in Zusammenhang mit den Ergebnissen von Resenscheck, fühlen wir uns veranlaßt, die bisherigen Ergebnisse vorläufig mitzuteilen.

Wir wollten im Anschluß an unsere früheren Untersuchungen die Adsorptionsaffinitäten der Zymase studieren. Der Hefepreßsaft wurde nach der Buchnerschen Vorschrift aus Bierhefe der Schultheißbrauerei gemacht. Um uns von einer etwaigen Verschiedenheit der Invertinwirkung in den verschiedenen Versuchen unabhängig zu machen, benutzten wir als Substrat nicht Rohrzucker, sondern Traubenzucker. Qualitative Übersichtsversuche ergaben folgendes:

Hefepreßsaft wurde mit reichlichen Mengen Adsorbens versetzt, filtriert, mit der halben Menge einer 60 %igen Traubenzuckerlösung (Traubenzucker „Kahlbaum") gemischt und in gewöhnliche Gärungskölbchen eingefüllt und bei ca. 25° sich selbst überlassen. Die Kontrollen

wurden genau gleichzeitig und eventuell mit einem entsprechend verdünnten, aber unvorbehandelten Preßsaft angesetzt. Dabei ergab sich:

I.

Filtrat von 6 Teilen Zymase + 8 Teilen Tonerdesuspension:

Erst nach 25 Minuten beginnt langsam eine Gärung, die erst sehr langsam fortschreitet, aber bis zum nächsten Tag die Röhre zur Hälfte mit CO_2 füllt.

Kontrolle mit unvorbehandelter Zymase:

Nach 10 Minuten beginnt lebhafte Gärung, die bis zum nächsten Tag die Röhre ganz mit CO_2 füllt.

II.

15 ccm Zymase + 1 g Kohle:	gärt.
8 ccm Zymase + 4 ccm Tonerde:	gärt, anfänglich träge, später kein Unterschied gegen die Kontrolle.
10 ccm Zymase + 2 g Kaolin:	gärt.
10 ccm Zymase + 2 g Kieselsäure:	gärt.

Zur genaueren Aufklärung wurden quantitative Versuche und Wägung der verlorenen CO_2 gemacht. Von mehreren vor einigen Monaten angestellten Versuchen führen wir vorläufig nur folgenden an:

Zeit in Stunden	CO_2-Verlust in Milligrammen, von Stunde zu Stunde				
	Kontrolle a	Kontrolle b[1]	Kaolin	Kieselsäure	Talk
1	8,2	10,0	4,5	4,6	6,4
2	8,4	7,8	6,2	5,4	7,0
3	9,8	8,2	6,6	4,8	9,6
4	10,5	9,2	11,4	4,8	8,4
5	9,7	13,2		6,4	8,6
6	10,1		7,9	4,8	7,8
7	8,1			4,4	7,0
8	9,2			4,8	7,0

Der Ausfall der Versuche ist nicht ganz eindeutig. Die Behandlung mit negativen Adsorbenzien beeinträchtigt die Gärkraft ein wenig, aber in Betracht der ungeheuer großen angewandten Mengen Adsorbens recht wenig. Positive Adsorbenzien hemmten deutlich stärker, ohne daß es jedoch möglich war, eine eventuell verspätet eintretende Gärung ganz zu unterdrücken. Wir erkannten hier zwei Schwierigkeiten:

[1]) Mit demselben Preßsaft 1 Stunde später als a angesetzt.

1. Die Zymase wirkt ja zusammen mit dem Koenzym, und in Zukunft mußten wir die Adsorptionsaffinitäten dieser beiden Substanzen getrennt untersuchen.

2. Es war zur Zeit, als wir diese Untersuchungen machten, noch nicht ausgemacht, ob jene Adsorptionen z. B. durch Kaolin wirklich elektrochemischer Natur oder mechanischer Natur waren. Erst jetzt haben wir nachgewiesen, daß ein mechanisches Adsorptionsvermögen dem Kaolin ganz abgeht, so daß wir erst jetzt mit Sicherheit das Verhalten einer Substanz gegen Kaolin als eindeutige Funktion des elektrochemischen Verhaltens betrachten können.

Mit aller Reserve gesprochen, hat es nunmehr auf Grund Resenschecks und unserer Versuche den Anschein, als ob die eigentliche Zymase weder von positiven noch negativen Adsorbenzien gut adsorbiert wird. Daraus wäre — wiederum vorläufig mit Vorsicht — zu schließen, daß Zymase ein elektroindifferenter (also nicht amphoterer!) Stoff ist. Dem stehen allerdings die Kataphorese-Versuche von Resenscheck entgegen. Es handelt sich aber da doch vielleicht um eine Abschwächung des Enzyms auf der anodischen Seite durch sekundäre Einflüsse der Elektrolyse, und nicht um eine Wanderung. Die durch diese sekundären Prozesse entstehenden Schwierigkeiten sind sehr erheblich, aber überwindlich.[1]) Die darüber in Gang befindlichen Versuche werden das Weitere lehren.

Zum Schluß möchten wir die Gelegenheit benutzen, um einen, wie es scheint, weiter um sich greifendem Irrtum vorzubeugen. Resenscheck schreibt: „Die Wanderung dieser Stoffe bei der Elektrolyse deutet darauf hin, daß sie kolloidale Natur haben.“ Dieser Auffassung steht die allbekannte Tatsache im Wege, daß auch Ionen wandern. Eine Wanderung im Stromgefälle beweist nur das Vorhandensein einer elektrischen Ladung.

---

[1]) Vgl. Landsteiner und Pauli, 25. Kongr. f. inn. Med., Wien 1908, S. 57.

Über fraktionierte Fällung des Hefepreßsaftes.

Von

Eduard Buchner und Franz Duchaček.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 23. November 1908.)

Das Gärungsagens des Hefepreßsaftes ist nicht einheitlicher Natur. Da bei dem Zuckerzerfall wahrscheinlich Milchsäure (oder eine nahe Vorstufe derselben) als Zwischenprodukt auftritt, muß auf die Tätigkeit von mindestens zwei verschiedenen Enzymen, der speziellen Hefezymase und der Lactacidase geschlossen werden.[1]) Beide Stoffe stehen sich vielleicht in ihren Eigenschaften nahe; jedenfalls sind bisher keine Handhaben vorhanden, welche eine Trennung dieser Gärungsenzyme ermöglichen. Es bleibt vorläufig nichts übrig, als darauf keine Rücksicht zu nehmen, daß der Name Zymase einen Sammelbegriff vorstellt. Anders liegen die Verhältnisse aber bezüglich der neueren Feststellungen, daß der Hefepreßsaft außer der Zymase noch einen weiteren für die Zuckerspaltung unentbehrlichen Körper, das sog. Ko-Enzym, enthält.[2]) Dieser Stoff unterscheidet sich ganz beträchtlich von der Zymase. Er ist im Gegensatz zu jener dialysierbar und verträgt Siedetemperatur, so daß er in aufgekochtem Hefepreßsaft sowie in wässerigen Auszügen

---

[1]) E. Buchner u. J. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 417, 1904; **38**, 620, 1905; **39**, 3201, 1906.

[2]) A. Harden u. W. Young, Journ. of Physiol. 32, Nr. **1**, 1904; Proc. physiol. Soc. Nov. **1904**; Proc. chem. Soc. 21, 189, 1905; Proc. Roy. Soc. **77**, 405; 78, 369, **1906** — E. Buchner u. W. Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, 136, 1905. — E. Buchner u. F. Klatte, diese Zeitschr. **8**, 520, 1908.

aus Hefe, die bei Siedehitze hergestellt wurden, in sog. „Kochsaft", noch unverändert vorhanden ist. Durch Zusatz von solchem Kochsaft zu frischem Hefepreßsaft wird die Gärwirkung des letzteren beträchtlich gesteigert, der Preßsaft wird, wie wir sagen wollen, „aktiviert". Merkwürdigerweise kann man durch Zusatz von Kochsaft aber auch Hefepreßsaft, der nach Zuckerzusatz seine Gärwirkung mehrere Tage lang entfaltet hat und dabei schließlich unwirksam geworden ist (der von nun ab als „ausgegorener Preßsaft" bezeichnet sei), wieder von neuem Gärkraft verleihen; wir schlagen vor, diesen Vorgang, also die Wiedererweckung der verschwundenen Gärkraft des ausgegorenen Saftes, unter „Regenerieren" zu verstehen. Das bedeutet offenbar, daß im ausgegorenen Preßsaft Mangel an Ko-Enzym herrscht, während noch wirksame Zymase anwesend ist. Auf Zusatz von Kochsaft, also von Ko-Enzym, kann die letztere von neuem Zucker vergären. Es verschwindet demnach im gärenden Hefepreßsaft zuerst das Ko-Enzym. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine Zerstörung durch Enzyme des Hefepreßsaftes, die den Lipasen nahestehen; denn Kochsaft, welcher mit Ricinuslipase behandelt wurde, eignet sich hernach nicht mehr zum Regenerieren von ausgegorenem Preßsaft. Das Ko-Enzym ist eine Phosphorsäureverbindung, und zwar, da es durch Glühen. durch vierstündiges Erhitzen mit Wasser auf 130° und durch verseifende Lipasen seine Wirkung einbüßt, vermutlich ein organischer Phosphorsäureester.

Infolge dieser Beobachtungen mußten die früheren Versuche über Fällung des Preßsaftes und besonders über fraktionierte Fällung wieder aufgenommen werden, denn man konnte ein wesentlich verschiedenes Verhalten von Zymase und Ko-Enzym gegenüber den Fällungsmitteln erwarten. Durch Eintragen von Hefepreßsaft in 12 Raumteile Alkohol[1]) oder in 12 Volumina Alkohol-Äther-Gemisch[2]) oder in 10 Raumteile Aceton[3]) gelingt

---

[1]) R. Albert u. Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 269, 1900. — E. u. H. Buchner u. M. Hahn, Die Zymasegärung, München 1903, S. 234.

[2]) R. Albert u. Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 974, 1900. — Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 239.

[3]) J. Meisenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 522, 1903. — Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 245.

es regelmäßig, Niederschläge zu erzielen, welche die ganze Gärkraft des ursprünglichen Saftes aufweisen. Aber alle Versuche, mit diesen drei Fällungsmitteln stark wirksame fraktionierte Fällungen zu erhalten, sind bisher gescheitert.[1])

Vergleichende Versuche haben nun gezeigt, daß das Aceton besonders dem absoluten Alkohol, aber auch dem Alkohol-Äther-Gemisch, bei weitem überlegen ist, was bisher nicht feststand.[2]) Diese Tatsache ist um so merkwürdiger, als Zusätze von Aceton bis zu 14 % die Gärkraft des Preßsaftes mehr schädigen als gleiche Alkoholdosen[3]), stimmt aber überein mit der Erfahrung, daß zur Herstellung gärkräftiger steriler Dauerhefe sich Aceton besser eignet als Alkohol.[4]) Die Erklärung dafür dürfte vielleicht in der Richtung zu suchen sein, daß von Aceton im Gegensatz zum Alkohol gewisse Körper nicht gelöst werden, z. B. Lecithin und vermutlich auch andere Phosphorsäureester, die dem Ko-Enzym nahestehen; sie gehen also bei Anwendung von Aceton leichter in die Niederschläge über.

Die bisherigen Versuche über fraktionierte Fällung wurden fast ausschließlich in der Weise ausgeführt, daß Preßsaft zunächst in eine kleine Menge Fällungsmittel und die vom Niederschlag abgetrennte Lösung dann erst in eine größere Menge eingetragen wurde. Dieses Verfahren kann aber zu einer systematischen Trennung der Preßsaftbestandteile nach ihrer Löslichkeit nicht führen, da hierbei die ersten Anteile des Preßsaftes doch mit einem großen Überschuß des Fällungsmittels in Berührung kommen. Richtiger war es deshalb, umgekehrt das Fällungsmittel unter Umrühren in den Saft einfließen zu lassen, um die Bestandteile des Preßsaftes allmählich je nach ihrer Löslichkeit niederzuschlagen. In dieser Weise verfahrend, haben wir in einer Anzahl von Fällen drei Fraktionen erzielt, wobei die Operation bis zur völligen Abtrennung der Niederschläge vom Fällungsmittel zwei Stunden dauerte. Um diese Zeit etwas abzukürzen, wurden in anderen Versuchen

[1]) Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 237, 245. — Buchner u. Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 211, 1905.

[2]) Vgl. Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 244.

[3]) Buchner u. Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 225, 1905.

[4]) Albert, Buchner u. R. Rapp, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 2376, 1902. — Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 266.

lediglich zwei getrennte Fällungen hergestellt, wodurch das Verfahren in einer Stunde beendet werden konnte. Aber in allen Fällen zeigten die ersten beiden Fraktionen nur geringe Gärkraft, die dritte überhaupt keine. Dieses Ergebnis konnte bei einzelnen Fällungen durch den Mangel an Ko-Enzym bedingt sein; wir haben deshalb meistens auch Gärkraftbestimmungen unter Zusatz von Kochsaft ausgeführt und sowohl bei der 1. wie bei der 2. Fällung eine beträchtliche Aktivierung erhalten, gewöhnlich eine stärkere bei der 1. Fraktion. Diese scheint demnach ärmer an Ko-Enzym zu sein, welches hauptsächlich erst bei höherer Konzentration des Fällungsmittels in den Niederschlag übergeht. Übereinstimmend damit ließ sich ein Ansteigen des Phosphorsäuregehaltes von der 1. zur 2. zur 3. Fraktion feststellen, was mit der Anhäufung von Ko-Enzym in den späteren Fällungen zusammenhängen dürfte. Die Fraktionen eignen sich gut, frischen Hefepreßsaft zu aktivieren, d. h. seine Gärkraft zu steigern; ferner kann man durch Zufügen derselben ausgegorenen Preßsaft regenerieren, in höherem Grade durch die 2. Fraktion als durch die 1., was wahrscheinlich wieder mit dem größeren Ko-Enzymgehalt der 2. in Beziehung steht. Wenn die geringe Wirkung der Fraktionen der Hauptsache nach dadurch bedingt wurde, daß die für die Gärwirkung unentbehrlichen Stoffe in einzelnen Niederschlägen nicht gleichmäßig verteilt waren, so mußte nach Vereinigung der Fällungen die sprüngliche Gärkraft hervortreten. Angestellte Versuche zeigten aber, daß dies nicht der Fall ist; selbst wenn man den wieder vereinten Fraktionen die von der letzten Fällung abgegossene, vom Fällungsmittel befreite und eingeengte Mutterlauge zufügte, wurde die frühere Wirkung des Preßsaftes nicht annähernd erreicht. Diese Tatsachen widersprechen auch der Vermutung, daß die schlechte Gärwirkung der 2. und 3. Preßsaftfällungen gegenüber Rohrzucker vielleicht hauptsächlich durch einen zu geringen Gehalt an Invertase bedingt sei, die überdies durch die Erfahrung widerlegt wird, daß Eintragen von 10 Raumteilen Aceton in Preßsaft zu ziemlich schlechten Ergebnissen führt. Außerdem liegt auch noch ein älterer Versuch vor, nach welchem durch Eintragen von annähernd 1 Volum Aceton in Hefepreßsaft lange nicht alle Invertase gefällt wird.[1])

[1]) Buchner u. Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 212, 1905.

Offenbar mußten also während der fraktionierten Fällung wichtige Bestandteile des Gärungsreagens zerstört worden sein. Zunächst war dabei an das Ko-Enzym zu denken, welches gewissen Einwirkungen gegenüber besonders empfindlich ist. Tatsächlich wurde die Gärkraft der wiedervereinten Fraktionen durch Kochsaftzusatz sehr wesentlich gesteigert und erreichte in einem Falle $^5/_7$ der Wirkung des ursprünglichen Saftes.

Welche Ursachen führen nun zur Schädigung des Gärungsagens bei fraktionierter Fällung? Wir überzeugten uns abermals in mehreren Versuchen, daß man durch Eintragen von Preßsaft in 10 Raumteile Aceton, dem Verfahren, das als das „normale" bezeichnet sei, einen Niederschlag von der vollen Gärkraft des Preßsaftes erhält; ja, er nahm sogar keinen Schaden, als man ihn vor dem Abzentrifugieren absichtlich 1 Stunde lang in dem Fällungsmittel liegen ließ. Dagegen wurde bei umgekehrtem Vorgehen, bei langsamem Eintragen innerhalb einer Stunde von 10 Volumina Aceton in Hefepreßsaft, fast die ganze Gärkraft vernichtet. Selbst bei raschem Eintröpfeln derselben Menge des Fällungsmittels in Preßsaft, wenn der Niederschlag dann 1 bis $2^1/_2$ Stunden mit dem Aceton stehen blieb, trat eine sehr deutliche Minderung der Wirkung ein. Trotzdem war in allen diesen Fällen die Ausbeute an Niederschlag dieselbe wie bei dem normalen Verfahren. Diese Ergebnisse machen es wenig wahrscheinlich, daß der Vorteil des Eintragens von Preßsaft in einen großen Überschuß von Aceton auf einem Niederreißen besonders wirksamer Teile des Gärungsagens mit den hier massenhaft ausfallenden Eiweißkörpern beruht. Wir geben der Annahme den Vorzug, daß beim Eintröpfeln von Aceton in Preßsaft, überhaupt immer wenn Preßsaft mit wenig Aceton in Berührung kommt, stark wasserhaltige Niederschläge entstehen, welche sich noch rasch weiter verändern, vielleicht durch gegenseitige Einwirkung ihrer verschiedenen Enzyme. Trägt man dagegen Preßsaft in einen großen Überschuß von Aceton (10 Raumteile) ein, so fallen die Niederschläge so wasserarm, daß chemische Vorgänge in denselben auf ein sehr geringes Maß herabgedrückt werden. Diese Vermutung findet eine Stütze in älteren Versuchen mit ge-

ringen Acetonmengen, aber besonders schneller Abtrennung der Fällungen. Es liegen zwei solche von J. Meisenheimer mit demselben Preßsaft aus Berliner Unterhefe vor,[1]) bei welchen je 100 ccm Preßsaft in 200 ccm Aceton eingetragen wurden. Die Menge des Niederschlages betrug in beiden Fällen 11 g; bei der Gärprobe mit $^1/_5$ der Fällung wurden beim einen Versuch 1,16 g Kohlendioxyd, beim andern 0,92 g erhalten, während 20 ccm von dem ursprünglichen Saft 0,96 g dieses Gases geliefert hatten; der Niederschlag zeigte also in einem Fall sogar eine bessere, im andern fast dieselbe Gärkraft wie der ursprüngliche Saft; bei beiden Versuchen war die Fällung durch Absaugen von der Mutterlauge getrennt worden, was infolge günstiger Beschaffenheit des Niederschlages ungewöhnlich rasch verlief. Ähnlichen Erfolg hatten zwei Versuche von Buchner und Antoni[2]), bei welchen es gelang, durch Eintragen von Preßsaft in nur 5 Raumteile Aceton eine Fällung von guter Wirksamkeit, fast derselben, wie bei Anwendung von 10 Raumteilen des Fällungsmittels, zu erhalten, wobei man die Abtrennung des Niederschlages vom Aceton mit Hilfe einer Zentrifuge aufs äußerste beschleunigte, so daß der letztere 25 Minuten nach Beginn der Versuche bereits mit Alkohol und Äther gewaschen, also praktisch trocken, im Exsiccator lag. Danach ist also die empirisch ermittelte, normale Menge von 10 Volumina Aceton empfehlenswert, nicht so sehr, damit alles niedergeschlagen wird, sondern in erster Linie, damit der Niederschlag in genügend wasserfreier Form ausfällt, welche eine Veränderung während des gewöhnlichen Verfahrens verhindert.[3]) Es ist noch

---

[1]) Einer von beiden ist veröffentlicht in „Die Zymasegärung" 1903, S. 246 unter Nr. II.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 154, 1905.

[3]) Im Lichte dieser Erkenntnis muß eine Folgerung aus einem früheren Versuche fallen gelassen werden. Da derselbe Preßsaft beim Eintragen in 4 und in 12 Raumteile Sprit die gleiche Ausbeute an Niederschlag, im ersteren Falle aber ein Produkt von nur der halben Gärwirkung geliefert hatte, wurde der Schluß gezogen, daß das Gewicht der Zymase gegenüber der Menge der übrigen Stoffe verschwindet (Albert und Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 270, 1900; vgl. auch „Die Zymasegärung", 1903, S. 232, 236. Die Beobachtung dürfte richtig darauf zurückzuführen sein, daß bei der Fällung durch nur 4 Volumina Sprit der feucht ausgeschiedene Niederschlag Schaden erlitten hat.

nötig darauf hinzuweisen, daß den eben beschriebenen vier günstigen Fällungsversuchen mit kleinen Acetonmengen einige erfolglos verlaufene gegenüberstehen, wo es denselben Experimentatoren bei anderen Hefepreßsäften anscheinend nach ähnlicher Methode mit geringen Mengen des Fällungsmittels nicht möglich war, gut wirksame Niederschläge zu erzielen. Vielleicht trägt daran die Qualität der jeweiligen Preßsäfte schuld. Immerhin lassen die positiven Versuche von Meisenheimer und von Buchner und Antoni einige Hoffnung, daß es noch gelingen kann, gärkräftige, fraktionierte Fällungen aus geeigneten Hefepreßsäften darzustellen, wenn man die Niederschläge auf das rascheste von dem Fällungsmittel trennt.

Bei zweien der Versuche über normale Fällung durch Eintragen des Preßsaftes in 10 Raumteile Aceton, von denen der eine mit stark gärkräftigem Saft, der andere mit solchem von geringer Wirkung angestellt wurde, ergab der letztere eine um $^1/_5$ geringere Ausbeute. Es kann nun sein, daß der Gehalt des Hefepreßsaftes an fällbaren Substanzen, abgesehen von der Qualität der Hefe, wesentlich von dem Grade der Zerreibung der Hefezellen bei der Darstellung des Saftes abhängt. Möglicherweise steht aber die Menge des Niederschlages auch mit der Gärkraft des Saftes in nahem Zusammenhang, indem schwach gärkräftiger Saft solcher ist, in welchem durch weit fortgeschrittene Selbstverdauung die leicht fällbaren komplizierten Eiweißkörper schon hochgradig abgebaut und ebenso das Gärungsagens durch die proteolytischen Enzyme bereits geschädigt ist. Diese Vermutung soll noch weiter geprüft werden.[1])

Als Übersicht über die zu beschreibenden Versuche mag folgendes dienen. Es liegen vier ausführliche Versuchsreihen vor. Die erste umfaßt drei Versuche über fraktionierte Fällung durch Aceton; es wurden je drei Fällungen innerhalb 2 Stunden hergestellt und die Gärkraft meist ohne und mit Zusatz von Kochsaft geprüft. Die zweite Versuchsreihe bringt einen Vergleich über fraktioniertes Fällen mit Aceton und mit

---

[1]) Für dieselbe sprechen zwei ältere Versuche von J. Meisenheimer (Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 522, 1903; s. auch „Die Zymasegärung", 1903, S. 244), welcher durch Eintragen in 10 Volumina Aceton aus gut wirksamem Preßsaft 13,6 g, aus schwächer gärkräftigem nur 12 g Fällung erhielt.

Alkohol, wobei nur je zwei Fraktionen dargestellt wurden, um die Operation schon in 1 Stunde beenden zu können; gleichzeitig wurden auch einige vollständige Fällungen durch 10 bis 12 Raumteile der Fällungsmittel ausgeführt. In der dritten Versuchsreihe sind diese vergleichenden Fällungsversuche außer auf Aceton und auf Alkohol noch auf ein Gemisch von Alkohol und Äther ausgedehnt, welche die Überlegenheit des Acetons, auch diesem dritten Fällungsmittel gegenüber, klargelegt haben; außerdem wurde der Phosphorsäure- und der Aschegehalt der verschiedenen Fraktionen bestimmt. Die vierte Versuchsreihe endlich enthält zwei Parallelversuche mit einem stark wirksamen und einem schwach gärkräftigen Preßsaft; in beiden Fällen wurden Niederschläge dargestellt durch langsames Eintragen von 10 Volumina Aceton in den Saft während $1^1/_2$ Stunden, durch rasches Eintragen derselben Menge Fällungsmittel in den Saft und Stehenlassen der Fällung mit der Mutterlauge und schließlich durch das umgekehrte, das sog. normale Verfahren.

Der Beschreibung der vier Versuchsreihen vorangestellt ist eine Übersicht über die Versuche, welche ausgeführt wurden, um die jeweils verwendeten Hefepreßsäfte auf ihre Gärkraft zu prüfen und die verschiedenen Kochsäfte auf ihre Fähigkeit, ausgegorenen Hefepreßsaft zu regenerieren. Sie dienen zugleich als Bestätigung der früheren Angaben von Buchner und F. Klatte[1]), indem sie zeigen, daß auch die hier vorliegenden ausgegorenen Preßsäfte durch Kochsaft regeneriert werden konnten. Zögert man aber mit dem Zusatz, so kann manchmal keine Regenerierung mehr erreicht werden; zu lange gestandener ausgegorener Preßsaft ist also meist nicht regenerierbar. Dagegen läßt sich durch über drei Wochen alten Kochsaft ausgegorener Preßsaft noch regenerieren; diese Haltbarkeit des Kochsaftes ist begreiflich, da das Spiel der Enzyme bei dem Aufkochen zerstört wird. Mit Kochsaft gelingt es ferner, wirksamen Preßsaft noch weiter zu aktivieren, was anzudeuten scheint, daß auch in gärkräftigem Saft manchmal ein Mangel an Ko-Enzym herrscht.

Der Schultheiß-Brauerei, A.-G. Berlin, welche uns durch Lieferung vorzüglicher Hefe unterstützt hat, sei auch an dieser Stelle unser bester Dank ausgesprochen.

[1]) Diese Zeitschr. 8, 520, 1908.

Experimentelles.

In der nachfolgenden Tabelle I sind eine Anzahl von Versuchen über Regenerierung der ausgegorenen Preßsäfte I bis VII durch verschiedene Kochsäfte A bis G zusammengestellt. Sie dienten, um die Wirksamkeit der in den unten beschriebenen Versuchsreihen I bis III verwendeten Kochsäfte zu prüfen. Zur Bereitung der Kochsäfte wurde 1 kg abgepreßte Hefe auf dem Dampfbad, wenn nötig, unter Wasserzusatz erhitzt, bis sich ein dünner Brei gebildet hatte. Mischt man dann Kieselgur zu, bis das Ganze fest geworden ist, und bringt die Masse in ein Preßtuch eingeschlagen in eine hydraulische Presse, so resultiert bei 300 Atmosphären Druck eine gelbliche, klare Flüssigkeit, die nur noch aufgekocht und filtriert zu werden braucht.

Die Gärkraftbestimmung wurde in der gewöhnlichen Weise nach der Verlustmethode ausgeführt, wobei Erlenmeyer-Kölbchen zur Anwendung kamen, bei welchen das Meißlsche Gärventil mittels eines Glasschliffes aufgesetzt war. Alle Gärversuche wurden im Thermostaten bei 22° ausgeführt; als Antisepticum diente Toluol; fast immer wurden zwei Parallelversuche angestellt, die sich gegenseitig kontrollieren.

Die Versuchsanordnung war folgende: Nachdem die Gärwirkung des frischen Preßsaftes fast ganz erloschen war, wurden 20 bzw. 10 ccm Kochsaft zugleich mit 4 g Rohrzucker und 0,2 ccm Toluol zugesetzt. War dieser Kochsaftzusatz drei Tage nach Beginn der Gärung erfolgt, so konnte jedesmal eine beträchtliche Regenerationswirkung konstatiert werden. Bei längerer Verzögerung des Kochsaftzusatzes blieb dagegen die Regenerierung minimal oder fehlte vollständig. Besonders tritt dies hervor bei Vergleich der Versuche 13 und 15, mit Kochsaftzusatz nach drei Tagen, mit den Versuchen 14 und 16, mit demselben Zusatz nach vier Tagen; während in den ersteren Fällen eine deutliche Wirkung erzielt wurde, war die Regenerierung in den beiden anderen Versuchen geringfügig. Nur der Preßsaft Nr. VI ließ sich, auch nachdem er sieben Tage lang Gärwirkung ausgeübt hatte, noch namhaft durch Kochsaftzusatz regenerieren (s. die Versuche 19 u. 20).

Tabelle I.

Regenerierung ausgegorener Preßsäfte durch Kochsaft.

Nummer	Gärkraftbestimmung: Je 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol gaben Kohlendioxyd in Gramm nach Tagen					Bezeichnung des Preßsaftes	Zusatz von Kochsaft + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol				Datum der Kochsaftbereitung	Kohlendioxyd in Gramm nach Tagen			
	1	2	3	4	5		nach Tagen	Alter des Kochsaftes in Tagen	Kochsaftzusatz in ccm	Bezeichnung des Kochsaftes		1	2	3	4
1	1,20	1,47	1,48	—	—	I	3	0	20	A	15. Mai	0,22	0,48	0,52	0,53
2	1,19	1,47	1,47	—	—							0,21	0,46	0,52	0,53
3	1,57	2,24	2,31	—	2,32	II	5	5	10	B	20. Mai	—	0,03	0,04	—
4	1,57	2,26	2,32	—	2,33							—	0,03	0,03	—
5	1,52	2,04	2,09	—	2,10	II	10	10	10	B	20. Mai	—	0,00	0,00	—
6	1,50	2,05	2,11	—	2,12							—	0,00	0,00	—
7	1,26	1,39	1,44	—	—	III	3	26	20	B	20. Mai	0,11	0,22	0,26	—
8	1,26	1,39	1,43	—	—							0,12	0,24	0,28	—
9	—	—	0,77	0,77	—	IV									
10	—	—	0,75	0,75	—										
11[1]	—	—	1,13	1,13	—										
12[1]	—	—	1,13	1,13	—										
13	—	—	0,76	—	—	IV	3	12	20	C	18. Mai	0,21	0,23	0,24	—
14	—	—	0,77	0,77	—		4	13				0,02	0,03	0,03	—
15	—	—	0,78	—	—	IV	3	0	20	D	15. Juni	0,32	0,35	0,36	—
16	—	—	0,75	0,75	—		4	1				0,05	0,07	0,08	—
17	0,77	0,89	0,90	—	—	V	3	1	20	E	18. Juni	0,36	0,40	0,50	0,53
18	0,76	0,88	0,89	—	—							0,35	0,41	0,52	0,55
19	1,09	1,24	1,27	—	1,29	VI	7	1	20	F	25. Juni	0,13	0,15	—	0,17
20	1,08	1,20	1,22	—	1,24							0,11	0,13	—	0,16
21	—	1,85	1,90	—	—	VII	3	7	20	G	30. Juni	0,25	0,37	0,45	0,48
22	—	1,86	1,91	—	—							0,24	0,36	0,43	0,46
23	—	1,85	1,90	—	1,90	VII	5	9	20	G	30. Juni	0,03	0,04	0,04	—
24	—	1,84	1,88	—	1,88							0,03	0,03	0,04	—
25[2]	—	2,93	3,23	3,48	4,20[3]	VII									
26[2]	—	2,91	3,22	3,47	4,16[3]										

[1]) Gärkraftbestimmung unter direktem Zusatz von 5 ccm Kochsaft B.

[2]) Gärkraftbestimmung unter direktem Zusatz von 20 ccm Kochsaft G.

[3]) Kohlendioxydmenge in Gramm nach 14 Tagen.

Die Regenerierung von ausgegorenem Preßsaft scheint demnach im allgemeinen nur dann zu gelingen, wenn der Kochsaft rechtzeitig, d. h. sofort nachdem die Gärkraft erloschen ist, zugesetzt wird. Es dürfte eine Art von Schutzwirkung des Ko-Enzyms auf die Zymase vorzuliegen. Wenn man durch erneute Kochsaftzusätze dafür Sorge trägt, daß stets Ko-Enzym vorhanden ist, bleibt die Gärwirkung lange erhalten und somit die Zymase intakt.

Der Kochsaft ist recht beständig; die Versuche 7 und 8 zeigen, daß man auch mit 26 Tage altem Kochsaft regenerieren kann. Der Kochsaft aktiviert ferner unter Umständen frischen Hefepreßsaft sehr erheblich, wie die Versuche 11 und 12 und besonders 25 und 26 beweisen.

I. Versuchsreihe. Fraktionierte Fällungen durch Aceton.

Die zu dieser Reihe gehörenden drei Versuche unterscheiden sich durch die zur Erzielung der einzelnen Fraktionen — es wurden immer drei Fällungen ausgeführt — angewandten Acetonmengen. Zur Trennung der erhaltenen Niederschläge von den Lösungen bedienten wir uns fast immer einer leistungsfähigen Zentrifuge von 3000 Umdrehungen in der Minute, worauf die überstehende Flüssigkeit einfach abgegossen werden konnte. Beim 1. Versuch wurden die Fällungen hernach mit Aceton und mit Äther gewaschen, beim 2. außerdem auch noch mit Alkohol, beim 3. ausschließlich mit Aceton.

1. Der erste Versuch sei etwas ausführlicher beschrieben. In 100 ccm frischen Preßsaft I aus Berliner Unterhefe (vgl. Tabelle I), der durch Zentrifugieren noch von Kieselgursplittern und Hefezellresten befreit war, wurde unter starkem Turbinieren eine Mischung von 50 ccm Aceton und 50 ccm Wasser eingetragen. Die entstandenene 1. Fällung trennte man durch Zentrifugieren vom Niederschlag. Zur Herstellung der 2. Fällung wurde die abgegossene Lösung abermals mit 100 ccm Aceton versetzt. Gleichzeitig wurde die 1. Fällung mit 100 ccm Aceton angerührt. Hernach erfolgte wieder die Abscheidung der 1. und der 2. Fällung von den Flüssigkeiten durch Zentrifugieren. In die von der 2. Fällung abgegossene Lösung wurden hierauf von neuem 200 ccm Aceton eingetropft, worauf sich die

3. Fällung beim Zentrifugieren als flockiger, aber halbschmieriger Niederschlag am Boden des Gefäßes absetzte. Zu gleicher Zeit wurden die 1. und die 2. Fällung mit je 100 ccm Aceton aufgeschlemmt und sodann zentrifugiert. Endlich wurden alle drei Fällungen nochmals mit je 100 ccm Aceton und sodann mit je 100 ccm Äther durchgerührt, jedesmal hernach zentrifugiert und die Niederschläge schließlich im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die 1. Fällung stellte nun ein feines, weißes Pulver, die 2. ein gelbliches, gröberes Mehl dar, während die 3. eine gelbe, feste und zerreibbare Masse bildete, die sich als sehr zerfließlich erwies. Durch das Verfahren war erreicht, daß alle drei Fällungen die gleiche Zeit mit dem Aceton in Berührung blieben. Dauer der ganzen Operation: 2 Stunden.

Übersichtlich läßt sich die Bereitungsweise dieser 3 Fällungen wie folgt darstellen.

Angewandt: 100 ccm Hefepreßsaft.

1. Fällung erzielt durch ein Gemisch von 50 ccm Aceton + 50 ccm Wasser, gewaschen schrittweise mit 100 + 100 + 100 ccm Aceton + 100 ccm Äther;	Ausbeute: 4,77 g
2. Fällung erzielt durch 100 ccm Aceton; gewaschen mit 100 + 100 ccm Aceton + 100 ccm Äther;	Ausbeute: 8,34 g
3. Fällung erzielt durch 200 ccm Aceton; gewaschen mit 100 ccm Aceton + 100 ccm Äther;	Ausbeute: 1,72 g
	Gesamtausbeute: 14,83 g

Zur Gärkraftbestimmung (s. Tabelle II) wurde von der 1. und 2. Fällung immer diejenige Menge, welche 20 ccm Preßsaft entspricht, d. h. ein Fünftel des ganzen Niederschlages in einer Reibschale mit Wasser bzw. mit Kochsaft A (s. Tab. I) angerieben, wobei keine völlige Lösung eintrat, und unter Zusatz von 8 g Rohrzucker und 0,2 ccm Toluol möglichst ohne Verlust in ein Meißlsches Gärkölbchen übergeführt (Nr. 29 bis 36); von der 3. Fällung wurde eine verhältnismäßig größere Menge für jeden einzelnen Gärversuch angewandt (Nr. 37 bis 38). Zum Vergleiche sind zwei Gärkraftbestimmungen des Preßsaftes vor Ausführung der Fällungen vorangestellt (Nr. 27 bis 28). Es ergab sich, daß die Gärwirkung durch die fraktionierte Fällung ganz außerordentlich herabgedrückt wird. Die 1. und 2. Fällung wiesen nur sehr geringe Gärkraft auf, die sich aber durch Kochsaftzusatz deutlich aktivieren ließ, besonders bei der

1. Fällung. Die 3. Fällung gab weder für sich noch nach Kochsaftzusatz eine Wirkung. Demnach enthalten die ersten beiden Fällungen noch wirksame Zymase (besonders die 1.), es fehlt in ihnen aber an Ko-Enzym (besonders in der 1. Fällung), welches erst bei stärkerem Zusatz von Aceton niederfällt und sich in der 3. Fällung anhäuft. Tatsächlich ließ sich nachweisen, daß diese letztere Fraktion eine beträchtliche regenerierende Wirkung auf ausgegorenen Preßsaft ausübt, ähnlich wie Kochsaft. Hierzu wurden 0,25 g der 3. Fällung (7 ccm Preßsaft entsprechend) gelöst in 5 ccm Wasser und mit 4 g Rohrzucker und 0,2 ccm Toluol zu ausgegorenem Preßsaft I (vgl. Tabelle I) gegeben, nachdem derselbe seine Gärwirkung 3 Tage lang ausgeübt hatte; es entwickelten sich nun innerhalb drei Tagen noch 0,25 g Kohlendioxyd.

Tabelle II.

Gärkraft der fraktionierten Acetonfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft I aus Berliner Unterhefe (bzw. die entsprechende Menge Niederschlag + 18 ccm Wasser oder 8 ccm Wasser und 10 ccm Kochsaft A) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Temperatur 22°.

Nummer	Datum	Fällung		Zusatz von		Kohlendioxyd in g nach Tagen				
		Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft A : ccm	1	2	3	4	7
27	12. Mai 1908	Saft vor Acetonzusatz				1,20	1,47	1,48	—	—
28	„					1,19	1,47	1,47	—	—
29	15. Mai 1908	erste	0,96	18	—	0,01	0,03	0,03	—	—
30	„	„	0,96	18	—	0,01	0,02	0,03	—	—
31	„	„	0,96	—	18	0,04	0,10	0,13	0,17	0,21
32	„	„	0,96	8	10	0,03	0,09	0,12	0,15	0,17
33	„	zweite	1,67	18	—	0,01	0,01	0,02	0,02	—
34	„	„	1,67	18	—	0,01	0,01	0,01	0,01	—
35	„	„	1,67	8	10	0,02	0,05	0,06	0,07	—
36	„	„	1,67	8	10	0,01	0,04	0,05	0,06	—
37	„	dritte	0,7	18	—	0,00	0,00	—	0,00	—
38	„	„	0,7	8	10	0,00	0,00	—	0,00	—

2. Der zweite Versuch unterscheidet sich vom vorhergehenden hauptsächlich darin, daß hier zur Herstellung der

3. Fällung eine doppelt so große Acetonmenge angewandt wurde; ferner diente zum nachherigen Waschen der Niederschläge außer Aceton und Äther hier auch noch absoluter Alkohol. Die Anordnung war ganz ähnlich wie beim 1. Versuch. Dauer der Operation: 2 Stunden.

Angewandt: 100 ccm Hefepreßsaft.

1. Fällung, erzielt durch ein Gemisch von 50 ccm Aceton + 50 ccm Wasser; gewaschen schrittweise mit 100 + 100 ccm Aceton + 100 ccm Alkohol + 100 ccm Äther; Ausbeute: 3,83 g
2. Fällung, erzielt durch 100 ccm Aceton; gewaschen mit 100 ccm Aceton + 100 ccm Alkohol + 100 ccm Äther; Ausbeute: 10,46 g
3. Fällung, erzielt durch 400 ccm Aceton, gewaschen mit 100 ccm Alkohol + 100 ccm Äther: Ausbeute: 1,23 g

Gesamtausgabe: 15,52 g

Zur Gärkraftbestimmung (s. Tab. III) wurden von allen 3 Fällungen diejenigen Mengen in Wasser gelöst, welche 20 ccm Preßsaft entsprachen. Die ersten zwei Fällungen hatten eine erheblich größere Wirkung als bei Versuch 1; beide wurden durch Kochsaftzusatz deutlich aktiviert, besonders hochgradig die 1. Fällung. Um die Gärkraft der Fällungen 1 und 2 vergleichen zu können, muß dieselbe für je 1 g Substanz berechnet werden; es ergibt sich so für 1 g der 1. Fällung eine Kohlendioxydentwicklung von ungefähr 0,08 g und bei Kochsaftzusatz von 0,28 g, für 1 g der 2. Fällung von 0,1 bzw. nach Kochsaftzusatz von 0,14 g. Die 1. Fällung war demnach etwas weniger wirksam als die 2., ihre Wirkung ließ sich aber durch Kochsaftzusatz auf das $3^1/_2$-fache, die der 2. Fällung nur auf das $1^1/_2$-fache steigern. Die 3. Fällung zeigte auch diesmal keine Gärkraft, auch nicht nach Kochsaftzusatz; hier fehlte also die Zymase. Die Fällungen 1 und 2 enthielten dagegen beide Zymase, aber nicht ausreichend Ko-Enzym, besonders nicht die 1. Fällung. Um das Ko-Enzym aus dem Preßsaft niederzuschlagen, bedarf es somit einer größeren Acetonmenge. In der Tat konnte mittels der 3. Fällung eine gute Regenerierung des ausgegorenen Preßsaftes II (s. Tab. I) erreicht werden; 0,2 g der Fällung entwickelten in 3 Tagen noch 0,12 g Kohlendioxyd. Sehr interessant verlief der Versuch, alle 3 Fällungen in den 20 ccm Preßsaft entsprechenden Mengenverhältnissen zu mischen und dann die Gärkraft zu bestimmen.

Es wurde eine starke Kohlendioxydentwicklung erhalten, die bedeutend die Summe der Gärkraft der einzelnen Fällung, selbst unter Kochsaftzusatz, übertraf. Immerhin erreichte sie aber noch nicht ein Drittel der Gärkraft des ursprünglichen Saftes, so daß zwei Drittel davon bei dem Fällungsverfahren verloren gehen.

Tabelle III.

Gärkraft der fraktionierten Acetonfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft II aus Berliner Unterhefe (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder 3 ccm Wasser und 15 ccm Kochsaft B) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Temperatur 22°.

Nummer	Datum	Fällung		Zusatz von		Kohlendioxyd in g nach Tagen			
		Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft B ccm	1	3	4	7
39	20. Mai 1908	Saft vor Acetonzusatz				1,52	2,09	2,10	2,10
40	„	Saft vor Acetonzusatz				1,50	2,11	2,12	2,12
41	22. Mai 1908	erste	0,77	18	—	0,01	0,05	0,06	0,06
42	„	„	0,77	18	—	0,01	0,04	0,05	0,05
43	„	„	0,77	3	15	0,05	0,21	—	0,21
44	„	„	0,77	3	15	0,05	0,22	—	0,22
45	„	zweite	2,10	18	—	0,06	0,17	0,20	0,20
46	„	„	2,10	18	—	0,06	0,17	0,19	0,20
47	„	„	2,10	3	15	0,09	0,29	—	0,29
48	„	„	2,10	3	15	0,08	0,28	—	0,28
49	„	dritte	0,4	18	—	0,00	0,00	—	0,00
50	„	„	0,4	3	15	0,00	—	—	0,00
51	„	erste zweite dritte	0,77 2,10 0,25	18	—	0,15	0,45	0,57	0,67

3. **Beim dritten Versuch** wurde, um die Mengenverhältnisse zwischen den drei Fällungen gleichmäßiger zu gestalten, zur Darstellung der 1. Fällung mehr Aceton, zur Bereitung der 2. Fraktion aber weniger von dem Fällungsmittel verwendet als bei den vorhergehenden. Ferner diente zum Waschen der Fällungen hier ausschließlich Aceton. Sonst blieb die Anordnung die frühere. Alle Niederschläge waren gleich lang mit dem Aceton in Berührung. Dauer der Operation: 2 Stunden.

Angewandt: 100 ccm Preßsaft.

1. Fällung, erzielt durch 100 ccm Aceton; gewaschen schrittweise mit 100 + 100 + 100 ccm Aceton; Ausbeute: 4,01 g
2. Fällung, erzielt durch 50 ccm Aceton; gewaschen mit 100 + 100 ccm Aceton; Ausbeute: 5,50 g
3. Fällung, erzielt durch 250 ccm Aceton; gewaschen mit 100 ccm Aceton; Ausbeute: 2,60 g

Gesamtausbeute: 12,11 g

Da es möglich schien, daß sich ein beträchtlicher Teil des Ko-Enzyms der Fällung überhaupt entzogen habe und daher in der von der 3. Fraktion abgegossenen Lösung zu suchen sei, wurde letztere in zwei Teile geteilt und zwei Fünftel davon im Vakuum unter 40° auf 10 ccm (Lösung V), drei Fünftel davon bei gewöhnlichem Luftdruck auf 15 ccm (Lösung G) eingedampft, wobei in beiden Fällen eine geringe Trübung auftrat, die nicht weiter berücksichtigt wurde.

Die Gärkraftbestimmung (s. Tab. IV) der Fällungen 1 bis 3 wurde nur unter Kochsaftzusatz ausgeführt, die der vereinigten drei Fällungen ohne und mit Kochsaftzusatz, ferner auch unter Hinzufügen der eingeengten Lösungen V und G in dem Mengenverhältnis, wie es 20 ccm Preßsaft entspricht. Auch hier erwies sich, wie beim 2. Versuch, unter Kochsaftzusatz die Gärkraft der 1. Fällung bedeutend größer, ungefähr dreimal so groß als die der 2. Fällung, wenn man auf gleiche Substanzmengen umrechnet. Die 3. Fällung hatte abermals keine Wirkung auf Zucker. Die Mischung aller drei Fraktionen zeigte nur ein Drittel der Gärkraft des ursprünglichen Saftes, wurde aber durch Kochsaftzusatz stark aktiviert, bis auf $^5/_7$ der früheren Gärwirkung, was anzudeuten scheint, daß es hauptsächlich das Ko-Enzym ist, welches bei der fraktionierten Fällung Schaden leidet. Die Gärkraft der vereinigten drei Fällungen unter Kochsaftzusatz ist wieder viel größer als die Summe der Gärkräfte der einzelnen Fraktionen mit Zugabe von Kochsaft. Das Hinzufügen der Lösungen V bzw. G zum Gemisch der drei Fraktionen hat keine günstige Wirkung ausgeübt. Die nach der 3. Fällung zurückbleibende Flüssigkeit enthält demnach kein Ko-Enzym, das als kochfeste Substanz in den Lösungen V und G unverändert vorhanden sein müßte.

Tabelle IV.

Gärkraft der fraktionierten Acetonfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft aus Berliner Unterhefe (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder 3 ccm Wasser und 15 ccm Kochsaft C) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Temperatur 22°.

Nummer	Datum	Fällung		Zusatz von		Kohlendioxyd in g nach Tagen		
		Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft C ccm	1	2	7
52	27. Mai 1908	Saft vor Acetonzusatz				—	0,72	0,72
53	„					—	0,72	0,72
54	5. Juni 1908	erste	0,8	3	15	—	—	0,21
55	„	zweite	1,1	3	15	—	—	0,09
56	4. Juni 1908	dritte	0,5	3	15	0,00	—	0,00
57	5. „	{ erste zweite dritte	0,8 1,1 0,5	18	—	—	—	0,24
58	„	desgl.	desgl.	3	15	—	—	0,52
59	4. „	{ erste zweite dritte Lösung V	0,8 1,1 0,5 5 ccm	13	—	0,10	—	0,22
60	„	{ erste zweite dritte Lösung G	desgl.	13	—	0,10	—	0,19

II. Versuchsreihe. Fraktionierte Fällungen mit Aceton und mit Alkohol.

Da die bisherigen Untersuchungen es noch möglich erscheinen ließen, daß sich Alkohol zum fraktionierten Fällen des Preßsaftes besser eignet als Aceton, wurden zwei vergleichende Versuche (a und b) angestellt. Um die schädigende Wirkung der Fällungsmittel herabzudrücken, wurde die Dauer der ganzen Operation auf die Hälfte, d. h. auf 1 Stunde abgekürzt, was sich aber nur dadurch erreichen ließ, daß man an Stelle von drei Fraktionen wie bisher nur zwei Fällungen herstellte. Zur weiteren Orientierung wurde ferner in einem kleinen Versuche (c) in denselben Preßsaft die 10 fache Menge

Aceton bzw. die 12 fache Menge Alkohol rasch eingetragen und dann geprüft, ob längeres Stehen des Niederschlages mit dem Fällungsmittel (Dauer der ganzen Operation 1 Stunde) schädlichen Einfluß hat. Zur Kontrolle wurde endlich in Preßsaft die 10fache Menge Aceton eingetragen und hierauf sofort auf einer Nutsche abgesaugt (Dauer der Operation nur $^1/_4$ Stunde), während sonst immer zentrifugiert wurde (Versuch d).

a) Fraktioniertes Fällen mit Aceton. Es wurde in 100 ccm Preßsaft 50 ccm reines Aceton eingetragen und das zweite Fällen mit 300 ccm reinem Aceton durchgeführt. Die erste Fällung wurde zweimal mit je 200 ccm Aceton und einmal mit 100 ccm Äther, die zweite Fällung nur einmal mit 200 ccm Aceton und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: 1 Stunde.

Ausbeute: erste Fällung (a_1) 8,30 g
zweite „ (b_1) 4,40 g
Gesamtausbeute: 12,70 g

Die von der zweiten Fällung abgegossene Lösung d_1 wurde auf 25 ccm abgedampft und davon ohne Rücksicht auf die entstandene Trübung bei einem Versuch (Nr. 68) ein Fünftel — 20 ccm Saft entsprechend — zugesetzt.

b) Fraktioniertes Fällen mit Alkohol. In 100 ccm Preßsaft wurden 50 ccm absoluten Alkohols eingetragen und nach dem Zentrifugieren die von der ersten Fällung abgegossene Flüssigkeit abermals mit 250 ccm Alkohol versetzt. Die erste Fällung wurde zweimal mit je 200 ccm Alkohol und einmal mit 100 ccm Äther, die zweite Fällung mit 200 ccm Alkohol und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: 1 Stunde.

Ausbeute: erste Fällung (a_2) 7,35 g
zweite „ (b_2) 5,25 g
Gesamtausbeute: 12,60 g

Die von der zweiten Fällung abgegossene Lösung d_2 wurde genau so eingedampft wie die Lösung d_1.

c) Vollständiges Fällen durch Aceton bzw. Alkohol. Parallel mit den obigen fraktionierten Fällungen haben wir in einem Falle 200 ccm Aceton, im anderen 240 ccm Alkohol in mäßig starkem Strahle und unter heftigem Turbinieren in je 20 ccm Preßsaft einfließen gelassen. Dann wurde zentrifugiert und die Fällungen wie bei den Versuchen a und b weiter behandelt. Dauer der Operation: 1 Stunde. Ausbeute: 2,75 g Acetonfällung α_1 (13,75 g pro 100 ccm Preßsaft) und 2,70 g Alkoholfällung α_2 (13,50 g pro 100 ccm Preßsaft), also bedeutend mehr wie bei a und b, da zum Fällen des Preßsaftes hier viel größere Mengen des Fällungsmittels angewandt wurden. Demnach genügten hier $3^1/_2$ Raumteile Aceton oder 3 Volumina Alkohol nicht zum Niederschlagen aller

fällbaren Bestandteile, während es bei anderen Preßsäften manchmal schon durch 2 bis 5 Raumteile Aceton gelang, die ganze Gärwirkung in der Fällung wiederzuerhalten.[1])

d) Zur Kontrolle haben wir endlich noch eine Acetonfällung genau wie bei c beschrieben durchgeführt, aber statt eine Stunde stehen zu lassen und dann zu zentrifugieren, rasch auf der Nutsche abgesaugt und mit Aceton und Äther gewaschen (Fällung β_1). Dauer der Operation nur $^1/_4$ Stunde. Ausbeute: 2,71 g (13,55 g pro 100 ccm Saft).

Es wurde die Gärkraft aller dieser Fällungen mit der Gärkraft des ursprünglichen Saftes verglichen, außerdem aber die Gärkraft der mit Kochsaft gemischten einzelnen Fraktionen und der Mischungen ($a_1 + b_1 + d_1$) bzw. ($a_2 + b_2 + d_2$) festgestellt (s. Tab. V). Bei den Versuchen a und b ergab sich auch hier, daß die Gärkraft durch das fraktionierte Fällen sehr herabgedrückt wird; die Verkürzung der Arbeitszeit auf 1 Stunde, die geringere Dauer der Berührung der Niederschläge mit den Fällungsmitteln hatten also keinen Nutzen gebracht. Dabei ist zwischen der Wirkung von Aceton und von absolutem Alkohol kein wesentlicher Unterschied festzustellen. Wie bei den früheren Versuchen erwies sich auch diesmal die erste Fällung stets als stärker aktivierbar durch Kochsaftzusatz wie die zweite, demnach wohl ärmer an Ko-Enzym wie jene. Das Gemisch der beiden Fraktionen erreichte selbst bei Zugabe von Kochsaft sowohl bei dem Aceton- wie bei dem Alkoholversuch nicht einmal die Hälfte der ursprünglichen Wirkung des Saftes. Das Zufügen der eingedampften Mutterlauge der zwei Fällungen zum Gemisch der Fraktionen hatte keinen besonderen Erfolg.

Deutlichere Ergebnisse wurden beim raschen und vollständigen Fällen des Preßsaftes erhalten, der Niederschlag durch 10 Vol. Aceton wies, trotzdem er absichtlich 1 Stunde mit dem Fällungsmittel gestanden hatte, noch die ganze Gärkraft des Saftes auf; im Gegensatz dazu hatte die Fällung durch 12 Vol. absol. Alkohol nach einstündigem Stehen $^4/_5$ der Wirkung eingebüßt. Hier also zeigte sich der Alkohol viel schädlicher als das Aceton. Auch der Niederschlag β_1 des Kontrollversuches d hatte die volle Gärkraft nahezu bewahrt.

[1]) Vgl. die oben erwähnten vier positiven Versuche von Meisenheimer und von Buchner und Antoni mit geringen Acetonmengen.

Tabelle V.

Gärkraft von fraktionierten und von vollständigen Aceton- und Alkoholfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft aus Berliner Unterhefe (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder 18 ccm Kochsaft D) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Temperatur 22°.

Nummer	Fällungsmittel	Datum	Fällung		Zusatz von		Kohlendioxyd in g nach Tagen		
			Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft D ccm	1	2	4
61	Aceton	17. Juni 1908	Saft vor Acetonzusatz				0,60	0,92	0,96
62		„	Saft vor Acetonzusatz				0,62	0,92	0,94
63		„	a_1	1,66	18	—	0,05	—	0,08
64		„	a_1	1,66	—	18	0,12	—	0,26
65		„	b_1	0,88	18	—	0,04	—	0,06
66		„	b_1	0,88	—	18	0,06	—	0,08
67		„	a_1 b_1	1,66 0,88	—	18	—	0,21	0,43
68		„	a_1 b_1 d_1	1,66 0,88 5 ccm	13	—	0,16	—	0,28
69		18. „	α_1	2,75	18	—	0,73	0,91	0,92
70		„	β_1	2,71	18	—	0,61	0,80	0,89
71	Alkohol	18. Juni 1908	a_2	1,47	18	—	0,07	0,13	0,13
72		„	a_2	1,47	—	18	0,14	0,25	0,26
73		„	b_2	1,05	18	—	0,02	0,05	0,05
74		„	b_2	1,05	—	18	0,02	0,03	0,03
75		„	a_2 b_2	1,47 1,05	—	18	0,22	0,39	0,40
76		„	a_2 b_2 d_2	1,47 1,05 5 ccm	13	—	0,10	0,15	0,15
77		„	α_2	2,70	18	—	0,14	0,18	0,19

III. Versuchsreihe. Fraktionierte Fällungen mit Aceton, mit Alkohol und mit Alkohol-Äther-Gemisch.

Die Parallelversuche der zweiten Reihe über fraktionierte Aceton- und Alkoholfällung wurden in größerem Maßstab wiederholt und durch vergleichsweise Verwendung eines dritten

Fällungsmittels, nämlich eines Alkohol-Äther-Gemisches erweitert. Um mit den einzelnen Fraktionen genaue Aktivierungs- und Regenerierungsversuche ausführen und den Wasser-, Aschen- und Phosphorsäuregehalt bestimmen zu können, war es nötig, für jeden Versuch 200 ccm Preßsaft in Arbeit zu nehmen. Außerdem wurden zum Vergleiche auch wieder einige vollständige Fällungen durch Eintragen von Saft in die 10- bis 12fache Menge des Fällungsmittels hergestellt.

a) Fällen mit Aceton. Es wurden in 200 ccm Preßsaft aus Berliner Unterhefe 80 ccm reines Aceton eingetragen und die entstandene Fällung a_1 zweimal mit je 200 ccm Aceton und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Die zweite Fällung b_1 wurde durch Zusatz von 140 ccm reinem Aceton erhalten; einmal mit 200 ccm Aceton und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Die dritte Fraktion c_1 wurde durch 800 ccm Aceton gefällt und nur einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. In allen Fällungen wurde der Wassergehalt durch Trocknen bei 105° im Toluolbade bestimmt. Die von dem dritten Niederschlag abgegossene Lösung d_1 wurde auf 50 ccm abgedampft und davon 15 ccm — 60 ccm des ursprünglichen Saftes entsprechend — für den Aktivierungsversuch Nr. 92 angewandt. In den bleibenden 35 ccm Lösung wurde die Trockensubstanz bestimmt.

Ausbeute:	Exsiccatortrocken:	Wassergehalt:	Trockensubstanz:
erste Fällung a_1 . . .	20,50 g	4,7%	19,54 g
zweite „ b_1 . . .	11,23 „	6,4 „	10,51 „
dritte „ c_1 . . .	4,62 „	8,2 „	4,24 „
Gesamtausbeute	36,35 g		34,29 g
	Trockensubstanz in der Lösung d_1		3,10 „
	„ „ 200 ccm Saft		37,39 g

Gleichzeitig mit diesem Fraktionierversuche wurden auch zwei vollständige Fällungen mit Aceton ausgeführt: In je 20 ccm Preßsaft wurden rasch unter starkem Umrühren je 200 ccm Aceton eingetragen, dann absichtlich stehengelassen und schließlich die Fällungen α und α_1 zweimal mit je 200 ccm Aceton und einmal mit je 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. In der von der Fällung α abgegossenen Lösung β wurde die Trockensubstanz bestimmt. Die Lösung β_1 wurde von der Fällung α_1 abgegossen, auf 5 ccm abgedampft und zu dem Aktivierungsversuche Nr. 93 (s. Tab. VI) zugesetzt.

Ausbeute:	Exsiccatortrocken:	Wassergehalt:	Trockensubstanz:
Fällung α_1 . . .	3,64 g	—	—
„ α . . .	3,64 „	5,95%	3,42 g
	Trockensubstanz in der Lösung β		0,32 „
	„ „ 20 ccm Saft		3,74 g

Beim Vergleiche der Gesamtausbeute pro 100 ccm Saft bei fraktionierter und bei vollständiger Fällung ist zu sehen, daß zum völligen Ausfällen dieses Preßsaftes die Hälfte der normalen Acetonmenge, nämlich 5 Volumina genügten.

b) Fällen mit absolutem Alkohol. Es wurden in 200 ccm desselben Preßsaftes 120 ccm Alkohol absolut eingetragen und die gewonnene Fällung a_2 zweimal mit je 200 ccm absolutem Alkohol und zum Schlusse mit 100 ccm Äther gewaschen. Die zweite und letzte Fällung b_2 wurde durch weiteren Zusatz von $1^1/_2$ l Alkohol erhalten, einmal mit 200 ccm Alkohol und zum Schlusse mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. Von beiden Fällungen erfolgte wieder eine Bestimmung des Wassergehaltes. Die von der zweiten Fraktion abgegossene Lösung d_2 wurde auf 50 ccm abgedampft und davon 15 ccm für den Aktivierungsversuch Nr. 109 (s. Tab. VII) angewandt. In 35 ccm dieser Lösung wurde die Trockensubstanz bestimmt.

Ausbeute:	Exsiccatortrocken:	Wassergehalt:	Trockensubstanz:
erste Fällung a_2 . .	24,24 g	5,9 %	22,79 g
zweite „ b_2 . .	8,20 „	9,93 %	7,38 „
Gesamtausbeute	32,44 g		30,17 g
	Trockensubstanz in der Lösung d_2		7,27 „
	„ „ 200 ccm Saft		37,44 g

Zur vollständigen Fällung wurden in 20 ccm Preßsaft rasch unter starkem Umrühren 240 ccm Alkohol eingetragen und die erhaltene Fällung α_2 zweimal mit je 200 ccm Alkohol und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Ausbeute: 3,30 g. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. Die zurückgebliebene Lösung β_2 wurde auf 5 ccm abgedampft und dem Aktivierungsversuche Nr. 106 zugesetzt.

Die Ausbeute ist bei den fraktionierten Fällungen kleiner, weil nur zwei Drittel der beim raschen Fällen verbrauchten Alkoholmenge in Anwendung kam. Beim Vergleiche mit den Fällungsversuchen durch Aceton findet man, daß dieses eine größere Menge Niederschlag ausgeschieden hat.

c) Fällen mit einem Alkoholäthergemisch. Es wurden in 200 ccm Preßsaft 120 ccm Alkoholäthermischung (2 Teile Alkohol + 1 Teil Äther) eingetragen und der Niederschlag a_3 zweimal mit je 200 ccm Alkoholäthermischung und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Die zweite Fällung b_3 wurde durch weiteren Zusatz von 500 ccm Alkoholäthermischung erhalten, einmal mit 200 ccm Alkoholäthermischung und zum Schlusse mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. In beiden Fällungen bestimmte man den Wassergehalt. Die von der zweiten Fällung abgegossene Flüssigkeit d_3 wurde auf 50 ccm abgedampft und davon 15 ccm — 60 ccm Saft entsprechend — für den Aktivierungsversuch Nr. 124 (s. Tab. VIII) angewandt. In 35 ccm dieser Lösung erfolgte die Bestimmung der Trockensubstanz.

Ausbeute:	Exsiccatortrocken:	Wassergehalt:	Trockensubstanz:
erste Fällung a_3 . .	19,73 g	4,55 %	18,83 g
zweite „ b_3 . .	10,22 „	6,90 „	9,51 „
Gesamtausbeute	29,95 g		28,34 g
	Trockensubstanz in der Lösung d_3		9,07 g
	„ „ 200 ccm Saft		37,41 g

Zur vollständigen Fällung wurden in 20 ccm Saft rasch unter starkem Umrühren 240 ccm der Alkoholäthermischung eingetragen. Die Fällung a_3 wurde längere Zeit stehen gelassen, dann abzentrifugiert und zweimal mit je 200 ccm Alkoholäthermischung und einmal mit 100 ccm Äther gewaschen. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden. Erhalten: 3,61 g Fällung (18,05 g pro 100 ccm Saft).

Die ersten zwei Niederschläge der fraktionierten Fällungen mit Aceton, Alkohol und Alkoholäthermischung, sowie auch die durch vollständiges Fällen erhaltenen Niederschläge wurden auf ihre Gärkraft (bei Wasser- bzw. Kochsaftzusatz) geprüft. Mit der dritten Fällung und mit den Abdampfrückständen wurden Aktivierungs- und Regenerierungsversuche ausgeführt. Die Versuche sind in den Tabellen VI, VII und VIII zusammengestellt.

Bei dem Fällen durch Aceton (siehe Tabelle VI) ist, berechnet auf die gleiche Menge, die Gärkraft der zweiten Fällung b_1 sowohl mit Wasser-, als auch mit Kochsaftzusatz größer als die der ersten Fällung a_1. In der ersten Fraktion machte sich ein stärkerer Mangel an Ko-Enzym geltend, wie klar aus dem Umstande erhellt, daß durch Kochsaftzugabe die Gärkraft sich auf das Dreifache erhöhte. Die Gärkraft des beim vollständigen Fällen erhaltenen Niederschlages α_1 wurde durch $1^1/_2$ stündigen Aufenthalt im Aceton nicht geschädigt und erreichte innerhalb der Fehlergrenzen die Wirkung des ursprünglichen Saftes.

Die fraktionierten Acetonfällungen aktivierten frischen Hefepreßsaft sehr gut, die zweite Fällung etwas besser als die erste, wohl infolge höheren Ko-Enzym- bzw. Phosphorsäuregehaltes. Auch die dritte Fällung aktiviert erheblich, nicht aber das Filtrat von der dritten Fällung oder das Filtrat von der vollständigen Fällung durch zehn Vol. Aceton; letztere beiden Flüssigkeiten enthalten offenbar kein Ko-Enzym und nur wenig Phosphorsäure. Die ersten beiden Acetonfällungen regenerieren

ferner ausgegorenen Preßsaft recht deutlich, in viel stärkerem Grade, nämlich $2^1/_2$ mal kräftiger, die zweite Fällung, was mit deren höherem Ko-Enzymgehalt zusammenhängen dürfte.

Tabelle VI.

Versuche mit fraktionierten Acetonfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder Kochsaft G) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol + bzw. Zusatz von Fällung oder Abdampfrückstand. Temperatur 22°.

Nummer	Versuche	Datum	Fällung		Zusatz von			Kohlendioxyd in g nach Tagen				
			Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft G ccm	Preßsaft ccm	1	2	3	4	7
78	Gärkraftbestimmungen	4. Juli 08	Saft vor Acetonzusatz					—	1,85	1,90	—	1,90
79		„						—	1,86	1,91	—	1,92
80		6. Juli 08	a_1	2,05	18	—	—	0,06	0,08	0,09	0,09	0,09
81		„	„	„	—	18	—	0,08	0,20	0,26	0,29	0,29
82		„	b_1	1,12	18	—	—	0,03	0,05	0,10	0,12	0,12
83		„	„	„	—	18	—	0,04	0,07	0,15	0,18	0,19
84		„	α_1	3,64	18	—	—	0,96	1,69	1,85	1,87	1,87
85	Aktivierungsversuche	23. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_1					1,26	1,83	1,92	1,92	—
86		„						1,25	1,82	1,90	1,90	—
87		„	a_1	2	—	—	20	1,60	2,33	2,70	2,72	—
88		„	b_1	2	—	—	20	1,48	2,48	2,96	2,98	—
89		17. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_2					1,06	1,13	1,13	—	—
90		„						1,07	1,14	1,15	—	—
91		„	c_1	1,54	—	—	20	1,41	1,63	1,64	—	—
92		„	d_1	15 ccm	—	—	20	0,74	0,97	0,98	—	—
93		„	β_1	5 ccm	—	—	20	0,91	—	1,03	1,04	—
94	Regenerierungsversuche	27. Juli 08	a_1	2	Ausgegorener Preßsaft P_1 + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol			0,09	0,12	0,13	—	0,14
95		„	b_1	2	desgl.			0,23	0,31	0,33	—	0,34

Tabelle VII.

Versuche mit fraktionierten Alkoholfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder Kochsaft G) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol + bzw. Zusatz einer Fällung oder Abdampfrückstand. Temperatur 22°.

Nummer	Versuche	Datum	Fällung: Bezeichnung	Fällung: in g	Zusatz von: Wasser ccm	Zusatz von: Kochsaft G ccm	Zusatz von: Preßsaft ccm	Kohlendioxyd in g nach Tagen: 1	2	3	4	7
96	Gärkraftbestimmungen	4. Juli 08	Saft vor Alkoholzusatz					—	1,85	1,90	—	1,90
97		"						—	1,86	1,91	—	1,92
98		6. Juli 08	a_2	2,42	18	—	—	0,00	0,00	—	—	0,00
99		"	"	"	—	18	—	0,00	0,00	—	—	0,00
100		"	b_2	0,82	18	—	—	0,00	0,00	—	—	0,00
101		"	"	"	—	18	—	0,00	0,00	—	—	0,00
102		"	α_2	3,30	18	—	—	0,02	0,05	0,07	0,08	0,09
103	Aktivierungsversuche	23. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_1					1,27	1,84	1,93	1,93	—
104		"						1,26	1,83	1,91	1,91	—
105		"	a_2	2	—	—	20	1,58	1,97	2,68	2,70	2,70
106		"	β_2	5ccm	—	—	20	1,23	1,88	2,10	2,10	—
107		17. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_2					1,06	1,13	1,13	—	—
108		"						1,07	1,14	1,15	—	—
109		"	d_2	15 ccm	—	—	20	0,79	—	1,16	1,18	—
110	Regenerierungsversuch	27. Juli 08	a_2	2	Ausgegorener Preßsaft P_1 + 4 g Rohrzucker + 0,2 cm Toluol			0,07	0,11	0,12	—	—

Bei den fraktionierten Fällungsversuchen mit absolutem Alkohol (siehe Tabelle VII) ist die Zymase der Fraktionen vollständig zerstört worden; dieselben zeigten sowohl für sich wie nach Kochsaftzusatz keine Gärwirkung. Auch der durch vollständiges Ausfällen mit zwölf Raumteilen Alkohol erzeugte Niederschlag hatte nach $1^1/_2$ stündigem Verweilen in dem Fällungsmittel nur mehr $^1/_{20}$ der Gärkraft des Preßsaftes,

alles Beweise für die schädliche Wirkung des Alkohols. Zum Aktivieren von frischem Preßsaft kann jedoch die erste Alkoholfällung Anwendung finden, auch die eingedampfte Mutterlauge von der Fällung durch zwölf Volumina zeigt ein, wenn gleich schwaches, Aktivierungsvermögen, ein noch geringeres die eingeengte Flüssigkeit nach Abscheidung der zweiten Fraktion. Dagegen regeneriert die erste Fällung ausgegorenen Preßsaft erheblich; mit der zweiten Fraktion liegt kein derartiger Versuch vor.

Die Fällungen mit Alkohol-Äther-Gemisch (siehe Tab. VIII) haben ein etwas besseres Ergebnis geliefert als jene mit absolutem Alkohol. Die erste Fraktion zeigte noch eine geringe Gärwirkung und ließ sich durch Kochsaftzusatz auch etwas aktivieren; mit der zweiten Fällung verliefen allerdings beide Versuche negativ. Der Niederschlag durch zwölf Vol. des Gemisches repräsentiert trotz $1^1/_2$stündigem Stehen mit dem Fällungsmittel ungefähr $^3/_4$ der Gärkraft des ursprünglichen Saftes. Die beiden Fraktionen aktivierten frischen Preßsaft sehr beträchtlich; weniger, aber immerhin noch erheblich, die bei der zweiten Fällung zurückbleibende, nachher eingeengte Lösung. Auch ausgegorener Preßsaft ließ sich durch die beiden fraktionierten Fällungen regenerieren, in höherem Maße durch die zweite. Alle Ergebnisse sprechen wieder dafür, daß die Hauptmenge des Ko-Enzyms in der späteren Fällung enthalten ist.

Phosphorsäure- und Aschengehalt der fraktionierten Fällungen und rückständigen Mutterlaugen.

Nachdem das Ko-Enzym höchstwahrscheinlich eine Phosphorsäureverbindung vorstellt, schien es von Interesse, die Verteilung der Phosphorsäure in den einzelnen Fraktionen und deren Mutterlangen zu verfolgen. Es wurden deshalb mit den verschiedenen Präparaten der III. Versuchsreihe quantitative Phosphorsäurebestimmungen ausgeführt. Um feststellen zu können, ob der Phosphorsäuregehalt in irgendwelchem Zusammenhang mit den übrigen anorganischen Substanzen der einzelnen Fällungen steht, haben wir auch den Aschengehalt ermittelt.

Tabelle VIII.

Versuche mit fraktionierten Alkoholätherfällungen.

Je 20 ccm frischer Preßsaft (bzw. die entsprechende Menge Fällung + 18 ccm Wasser oder Kochsaft G) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol + bzw. Zusatz von Fällung oder Abdampfrückstand. Temperatur 22°.

Nummer	Versuche	Datum	Fällung		Zusatz von			Kohlendioxyd in g nach Tagen			
			Bezeichnung	in g	Wasser ccm	Kochsaft G ccm	Preßsaft ccm	1	2	3	4
111	Gärkraftbestimmungen	4. Juli 08	Saft vor Alkoholätherzusatz					—	1,85	1,90	1,90
112		„						—	1,86	1,91	1,92
113		9. Juli 08	a_3	1,97	18	—	—	0,02	—	0,02	0,02
114		„	„	„	—	18	—	0,08	—	0,12	0,12
115		„	b_3	1,02	18	—	—	0,00	—	0,00	0,00
116		„	„	„	—	18	—	0,00	—	0,00	0,00
117		6. Juli 08	α_3	3,61	18	—	—	0,35	0,82	1,12	1,38[1]
118	Aktivierungsversuche	23. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_1					1,26	1,83	1,91	1,91
119		„						1,26	1,81	1,88	1,89
120		„	a_3	2	—	—	20	1,47	1,85	2,45	2,47
121		„	b_3	2	—	—	20	1,59	2,21	2,74	2,76
122		17. Juli 08	Gewöhnliche Gärkraftbestimmung mit Preßsaft P_2					1,06	1,13	1,13	—
123		„						1,07	1,14	1,15	—
124		„	d_3	15 ccm	—	—	20	0,84	1,32	1,35	1,36
125	Regenerierungsversuche	27. Juli 08	a_3	2	Ausgegorener Preßsaft P_1 + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol			0,07	0,08	0,09	—
126		„	b_3	2	desgl.			0,11	0,18	0,22	—

Zur Phosphorsäurebestimmung wurden 2 bis 2,5 g Substanz unter Zusatz von 10 g krystallisierter Soda bei kleiner Flamme verkohlt, hierauf stärker erhitzt und portionsweise 20 g Salpeter eingetragen. Nachdem so vollständige Verbrennung erzielt war, wurde in Wasser gelöst, filtriert, mit Salpetersäure angesäuert

[1]) Nach 7 Tagen.

und Kohlendioxyd und Stickoxyde durch Erwärmen auf dem Wasserbade ausgetrieben. Die Fällung der Phosphorsäure erfolgte dann mit molybdänsaurem Ammonium, die Wägung als Magnesiumpyrophosphat.

Die Ergebnisse sind in Tabelle IX zusammengestellt. Zunächst seien die Phosphorsäurezahlen besprochen. Verwendet man Aceton als Fällungsmittel, und zwar 10 Volumina (Fällung α), so wird fast alle Phosphorsäure mit niedergerissen; nur etwa 4% bleiben noch in Lösung (Mutterlauge β). Bei fraktionierter Fällung durch Aceton steigt der Phosphorsäureprozentgehalt von der 1. zur 2. zur 3. Fraktion (Fällungen a_1, b_1, c_1); dem entspricht, daß die 2. Fällung stärker aktivierend und regenerierend wirkt als die 1. (vgl. Tab. VI). Hat man zu den fraktionierten Fällungen 5 Vol. Aceton angewandt, so finden sich im Filtrat (Mutterlauge d_1) nur mehr 5 bis 6% des gesamten Phosphorsäuregehaltes; die vorliegenden Phosphorverbindungen sind also in Aceton ziemlich schwer löslich. Auch bei den Alkohol- und den Alkoholätherfällungen enthielt die 2. Fraktion mehr Phosphorsäure als die 1. Die durch 8 Vol. absoluten Alkohol bzw. 3 Vol. Alkoholäthergemisch erzielten Fällungen waren hier lange nicht so vollständig wie bei den obigen Acetonversuchen, was sich außer im geringen Gewicht der Niederschläge auch im hohen Phosphorsäuregehalt der Mutterlaugen von der 2. Fällung zu erkennen gab; beim Alkoholversuch waren fast 14% der gesamten Phosphorsäure nicht niedergeschlagen worden, bei der Alkoholätherfällung sogar 26%. Auf diese Verhältnisse wird zum Teil die schlechte Gärwirkung der betreffenden Fällungen zurückzuführen sein. Die letzte Spalte der Tabelle IX zeigt, daß die Phosphorsäurebestimmungen in den einzelnen Fraktionen und rückständigen Lösungen Zutrauen verdienen, denn die Summe der gefundenen Phosphorsäuremengen entspricht innerhalb sehr enger Grenzen dem Gesamtphosphorsäuregehalt des Preßsaftes.

Der Glührückstand oder Aschengehalt steigt von der 1. zur 2. Fällung[1]), also ebenso wie der Phosphorsäuregehalt. Das

[1]) Ähnliches haben bei einer fraktionierten Fällung von Preßsaft durch Aceton auch schon Buchner und Antoni festgestellt. Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 142, 1905.

Verhältnis der Gewichte von Asche und Phosphorsäure ist stets annähernd 2:1, d. h. 50% des Glührückstandes treffen ungefähr auf die Phosphorsäure. Ähnlich beträgt auch für frische Hefe der Phosphorsäuregehalt annähernd 50% der Asche.[1]) Es dürfte dies dadurch bedingt sein, daß die Hauptmenge der Phosphorsäure in anorganischer Bindung vorliegt, als sekundäres Kaliumphosphat, das beim Glühen in Kaliumpyrophosphat mit 43% P_2O_5 übergeht. Der Mehrgehalt der Aschen an Phosphorsäure ist durch ursprünglich organisch gebundene Phosphorsäure veranlaßt.

Tabelle IX.

Aschen- und Phosphorsäurebestimmungen in den einzelnen fraktionierten Fällungen und Mutterlaugen der III. Versuchsreihe.

Fällungsmittel	Fraktion bzw. Rückstand der eingedampften Mutterlauge[2])		Glührückstand		Phosphorsäure, berechnet auf P_2O_5			
		Gewicht[3]) in g	der Fällung[3]) %	der Trockensubstanz[4]) %	In der Fällung[3]) %	in der Trockensubstanz[4]) %	Gewicht in g	In 20 bzw. 200 ccm Preßsaft g
Aceton	Fällung α	3,42	11,00	11,70	5,20	5,53	0,189	0,197
	Mutterlauge β	0,32	—	—	—	2,56	0,008	
	Fällung a_1	19,54	8,95	9,39	4,67	4,90	0,957	1,965
	„ b_1	10,51	11,35	12,13	5,43	5,80	0,610	
	„ c_1	4,24	—	—	—	6,77	0,287	
	Mutterlauge d_1	3,10	—	—	—	3,57	0,111	
Alkohol	Fällung a_2	22,79	9,00	9,56	4,64	4,93	1,125	1,972
	„ b_2	7,38	14,85	16,48	7,02	7,79	0,575	
	Mutterlauge d_2	7,27	—	—	—	3,74	0,272	
Alkohol-Äther	Fällung a_3	18,83	6,80	7,12	3,88	4,06	0,766	1,967
	„ b_3	9,51	14,10	15,15	6,73	7,23	0,688	
	Mutterlauge d_3	9,07	—	—	—	5,65	0,513	

[1]) Vgl. Lafar, Handb. d. techn. Mykologie, 4, 84, Jena 1907; A. Mayer-Meisenheimer, Gärungschemie, Heidelberg 1906, S. 112.

[2]) Die Bedeutung der Buchstaben siehe oben in der Beschreibung des III. Versuchsreihe.

[3]) Exsiccatortrocken.

[4]) Bei 105° getrocknet.

IV. Versuchsreihe. Acetonfällungen nach verschiedenen Methoden.

Es bereitet keine Schwierigkeiten durch Eintragen von Preßsaft in 10 Raumteile Aceton einen Niederschlag herzustellen, der die volle ursprüngliche Gärkraft aufweist. Trotzdem waren sämtliche fraktionierte Fällungsversuche von keinem guten Erfolge begleitet, obwohl auch hier die gesamte Ausbeute an Niederschlägen die normale Höhe erreichte und obwohl in den Mutterlaugen der letzten Fällung fast keine Phosphorsäureverbindungen mehr zurückblieben. Als Ursache dieser Mißerfolge konnte man vermuten, daß bei der fraktionierten Fällung die für die Gärwirkung nötigen verschiedenen Enzyme vielleicht getrennt und in den einzelnen Fraktionen nicht mehr in genügender Menge gleichzeitig vorhanden seien. Aber auch die wieder vereinigten Fällungen erreichten, selbst nach Kochsaftzusatz, nicht mehr annähernd die Gärwirkung des Preßsaftes. Es mußte demnach das Verfahren bei Herstellung der Fraktionen zu einer teilweisen Vernichtung der Enzyme geführt haben. Einige Aufklärung über diese Verhältnisse wurde durch zwei Parallelversuche erzielt, angestellt mit einem Preßsaft (M) von starker und einem Preßsaft (N) von schwacher Gärwirkung, bei welchen Fällungen mit je 10 Volumina Aceton, aber nach drei verschiedenen Methoden vorgenommen wurden.

1. Fraktioniertes Fällen ohne Isolierung der einzelnen Niederschläge. In 2 Versuchen wurden zu 20 ccm frischen Preßsaft aus Berliner untergäriger Hefe unter starkem Umrühren je 10 ccm Aceton tropfenweise zugesetzt. Statt diese erste Fällung abzuzentrifugieren, wurde sie stehengelassen und von Zeit zu Zeit umgeschüttelt; nach 15 Minuten erfolgte unter starkem Umrühren ein Zusatz von weiteren je 20 ccm Aceton. Nach 15 Minuten setzte man wieder je 40 ccm Aceton zu. Nach abermals 15 Minuten wurde das Fällen durch Zusatz von 130 ccm Aceton beendet, so daß in einer Stunde allmählich je 200 ccm des Fällungsmittels zugesetzt worden waren. Nach dem letzten Acetonzusatze wurde die Fällung noch 15 Minuten mit der Flüssigkeit in Berührung belassen, dann abzentrifugiert, die Mutterlauge von der Fällung abgegossen, die letztere einmal mit 100 ccm Aceton und einmal mit 100 ccm Äther ausgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Dauer der gesamten Operation $1^1/_2$ Stunden. Die so erhaltenen zwei Fällungen M_1 und M_2 zeigten ein Gewicht von 3,51 g bzw. 3,25 g.

Bei einem anderen Safte N wurde das Aceton immer nach 20 Minuten zugesetzt und somit die ganze Operation auf 2 Stunden verlängert. Erhalten: 2,81 g der Fällung N_1 und 2,83 g der Fällung N_2.

2. Rasches Eintragen von 10 Vol. Aceton in Preßsaft. In drei Versuchen wurde in je 20 ccm frischen Saft M tropfenweise unter starkem Umrühren je 200 ccm Aceton eingetragen und die Fällungen unter zeitweisem Mischen mit der Flüssigkeit eine Stunde (Versuche M_3 und M_4) bzw. $2^1/_2$ Stunden (M_5) in Berührung gelassen. Nachher wurde zentrifugiert und das Waschen wie beim vorhergehenden Versuch durchgeführt. Dauer der Operation: $1^1/_2$ Stunden (bzw. 3 Stunden). Die Fällungen M_3 und M_4 wogen 3,55 g resp. 3,53 g, M_5 3,56 g.

Bei dem Safte N dauerte die analoge Operation 2 Stunden; man erhielt 2,83 g der Fällung N_3 und 2,84 g der Fällung N_4.

3. Rasches Eintragen von Preßsaft in 10 Vol. Aceton. Zum Vergleich wurden in je 200 ccm Aceton unter starkem Umrühren zweimal je 20 ccm Preßsaft M tropfenweise eingetragen, der Niederschlag eine Stunde mit dem Aceton in Berührung gelassen und nachher ebenso wie beim vorhergehenden Versuch abgetrennt und ausgewaschen. Dauer der gesamten Operation: $1^1/_2$ Stunden. Erhalten: 3,57 g Fällung M_6 und 3,54 g Fällung M_7.

Bei dem Safte N, bei welchem das Verfahren auf 2 Stunden ausgedehnt wurde, erhielt man 2,85 g der Fällung N_5 und 2,87 g der Fällung N_6.

Die Ergebnisse sind in Tabelle X zusammengestellt. Zunächst sei die Versuchsreihe mit Preßsaft M besprochen. Sämtliche Fällungen zeigen, im Exsiccator getrocknet, dasselbe Gewicht, welches lediglich innerhalb der Fehlergrenzen schwankt. Trotzdem weisen nur die Niederschläge, die durch Eintragen des Preßsaftes in 10 Vol. Aceton erhalten wurden (M_6 und M_7), die volle Gärkraft des ursprünglichen Saftes auf; das längere Verweilen im Fällungsmittel (1 Stunde lang) hat die Wirkung nicht vermindert. Die durch langsames Eintragen der gleichen Menge Aceton in Preßsaft gewonnenen Niederschläge (M_1 und M_2) besitzen nur sehr wenig Gärkraft. Selbst die durch rasches Eintröpfeln von 10 Raumteilen Aceton in Preßsaft erhaltenen Fällungen zeigen, wenn man sie 1 Stunde (M_3 und M_4) und besonders, wenn man sie $2^1/_2$ Stunden (M_5) mit dem Fällungsmittel stehen läßt, eine bedeutende Abnahme der Wirksamkeit, in ersterem Falle um $^1/_7$, in letzterem sogar nahezu um die Hälfte. Die wahrscheinlichste Annahme zur Erklärung dieser merkwürdigen Resultate dürfte sein, daß die durch wenig

Tabelle X.

Verschieden hergestellte Acetonfällungen.

Je 20 ccm Preßsaft aus Berliner Unterhefe (bzw. der ganze, aus 20 ccm dieses Preßsaftes, mit Aceton ausgefällte Niederschlag + 18 ccm Wasser) + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Temperatur 22°.

Nummer	Datum	Fällung		Kohlendioxyd in g nach Tagen				
		Bezeichnung	in g	1	2	3	4	5
127	15. Juli 1908	Saft M vor Acetonzusatz		1,22	1,44	1,47	—	1,48
128	„			1,21	1,42	1,44	—	1,45
129	17. Juli 1908	M_1	3,51	0,09	—	0,12	0,12	—
130	„	M_2	3,52	0,06	—	0,07	0,08	—
131	„	M_3	3,55	1,06	—	1,20	1,21	—
132	„	M_4	3,53	1,12	—	1,28	1,29	—
133	„	M_5	3,56	0,66	—	0,86	0,87	—
134	„	M_6	3,57	0,84	—	1,24	1,46	1,47
135	„	M_7	3,54	0,80	—	1,19	1,40	1,42
136	21. Juli 1908	Saft N vor Acetonzusatz		0,63	0,70	0,73	0,74	—
137	„			0,64	0,72	0,74	0,75	—
138	24. Juli 1908	N_1	2,81	0,04	—	0,05	0,05	—
139	„	N_2	2,83	0,04	—	0,06	0,07	—
140	„	N_3	2,83	0,31	—	0,45	0,46	—
141	„	N_4	2,84	0,29	—	0,40	0,42	—
142	„	N_5	2,85	0,58	—	0,72	0,73	—
143	„	N_6	2,87	0,58	—	0,71	0,71	—

Fällungsmittel in sehr feuchtem Zustand niedergeschlagenen Fällungen sich infolge ihres hohen Wassergehalts vielleicht durch gegenseitige Einwirkung der vorhandenen Enzyme noch rasch verändern. Trägt man dagegen umgekehrt den Preßsaft tropfenweise in 10 Volumina Aceton ein, so fällt von vornherein der Niederschlag in so wasserfreier Form, daß eine weitere Veränderung nicht mehr eintritt. Auffallend ist noch die rasche Angärung bei den Versuchen 131 und 132 und teilweise auch bei 133 im Gegensatz zu 134 und 135; vielleicht hat bei den beiden letzteren die große Menge von Aceton zu Anhydrisierungsvorgängen bei den Enzymen geführt, die sich erst

allmählich unter Wasseraufnahme und Wiederherstellung der wirksamen Form ausgleichen.

Die Versuchsreihe mit Preßsaft N von viel schwächerer Gärwirkung hat zu ganz analogen Ergebnissen geführt. Nur wiesen hier alle Niederschläge ein um $^1/_5$ geringeres Gewicht auf als die Fällungen aus dem sehr gärkräftigen Preßsaft M. Ausführliche Untersuchungen müssen erst feststellen, ob diese interessante Beobachtung allgemein zutrifft.

Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit der Säuren.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Physiologischen Laboratorium der Universität von California, Berkeley, California.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1908.)

1. Einleitung.

Die bisherigen Versuche über die physiologische Wirksamkeit der Säuren haben zu zwei allgemeinen Resultaten geführt, von denen eins mit der Theorie der elektrolytischen Dissoziation übereinstimmt, das andere aber scheinbar damit in Widerspruche steht. Es stellte sich nämlich heraus, daß die gleich stark dissoziierten anorganischen Säuren eine der Dissoziation entsprechende gleiche physiologische Wirksamkeit besitzen, daß aber die organischen Säuren im allgemeinen eine stärkere Wirkung entfalten, als man nach ihrem Dissoziationsgrade erwarten sollte. Auch ein Vergleich der verschiedenen organischen Säuren untereinander ergab, daß deren Wirksamkeit nur unvollkommen der Annahme entspricht, daß dieselbe ausschließlich durch die Konzentration der freien Wasserstoffionen bestimmt sei.[1]) Entweder ist also die letztere Annahme unrichtig, oder es spielt eine weitere Variable herein, welche die nach der Dissoziationstheorie zu erwartende Gesetzmäßigkeit verdeckt.

---

[1]) Kahlenberg und True, Bot. Gazette 22, 1896. — Loeb, Pflügers Archiv 69, 1, 1897 u. 71, 457, 1898. — Richards, Am. Chem. Journ. 20, 1898. — Vandevelde, Chem.-Zeitg. 30, 296, 1906. — Führer und Neubauer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 333, 1907. — Barratt, Zeitschr. f. allg. Physiol. 4, 438, 1904.

Versuche über die Wirksamkeit der Säuren bei der künstlichen Parthenogenese, welche ich vor nahezu vier Jahren veröffentlichte, zeigten, daß die letztere Vermutung für diese Versuche wahrscheinlich richtig ist, und daß die störende Variable in dem Einfluß der Konstitution der Säuren zu suchen sei.[1]) Um diese Versuche verständlich zu machen, sind ein paar Vorbemerkungen nötig.

Die erste Veränderung, welche das Eindringen eines Spermatozoons ins Ei hervorruft, besteht bei den Eiern vieler Tiere in der Bildung einer sogenannten Befruchtungsmembran. Eine Analyse dieses Vorgangs zeigt, daß an der Oberfläche des Eies feinste Tröpfchen sich bilden, welche zu einer zusammenhängenden Schicht um das Ei zusammenfließen. Diese Schicht bildet an der äußeren Oberfläche eine feste Lamelle, die vielleicht eine im Kontakt mit Seewasser gebildete Niederschlagsmembran ist. Möglicherweise aber ist diese feste Lamelle die ursprüngliche Oberflächenlamelle der Eicytoplasmas, die durch die Tröpfchen abgehoben wurde. Diese Lamelle ist für Seewasser im allgemeinen durchgängig, dagegen undurchgängig für Eiweiß und andere kolloidale Stoffe. Deshalb füllt sich der Raum zwischen der Lamelle und dem Eicytoplasma mit Seewasser, bis die Spannung der Lamelle dem osmotischen Überdruck der kolloidalen Lösung, die in Tröpfchenform infolge der Befruchtung aus dem Ei ausgetreten ist, das Gleichgewicht hält. Diese feste Lamelle bezeichnen wir nun als Befruchtungsmembran.

O. und R. Hertwig hatten gefunden, daß der Zusatz von etwas Chloroform zum Seewasser eine Membranbildung verursacht,[2]) und Herbst hatte gezeigt, daß ein ähnliches Resultat durch Benzol, Toluol und Xylol hervorgerufen werden kann.[3]) Bei der Behandlung mit diesen Stoffen gehen die Eier aber rasch zugrunde, und die von Hertwig und Herbst be-

[1]) Loeb, Univ. of California Public. Physiology 2, 113, 1905. Abgedruckt in „Untersuchungen über künstliche Parthenogenese", Leipzig 1906.

[2]) O. u. R. Hertwig, Untersuch. zur Morphol. u. Physiol. d. Zelle. Heft 5, Jena 1887.

[3]) Herbst, Biol. Centralbl. 13, 1893 und Mitteil. a. d. Zool. Station in Neapel 16, 1904.

obachteten Membranbildungen bildeten nur einen Teilvorgang einer durch die erwähnten Stoffe hervorgerufenen Cytolyse des Eies.

Ich fand nun vor vier Jahren, daß es eine andere Methode der Hervorrufung der Befruchtungsmembran beim unbefruchteten Ei gibt, bei der dasselbe nicht zugrunde geht, sondern zur Entwicklung veranlaßt wird.[1]) Diese Methode besteht in einer kurzen Behandlung der unbefruchteten Seeigeleier mit einer Säure. Der Vorgang der Membranbildung, welchen man bis dahin für einen nebensächlichen Vorgang gehalten hatte, gewann damit eine hervorragende Bedeutung.

Diese Hervorrufung der Membranbildung beim unbefruchteten Seeigelei mittels Säure ist nun der Vorgang, der in dieser Arbeit als Maß für die physiologische Wirksamkeit verschiedener Säuren dienen soll. Ich hatte nämlich schon in meinen ersten Versuchen bemerkt, daß nicht alle Säuren für die Hervorrufung der Befruchtungsmembran gleich geeignet sind, sondern daß die einbasischen Fettsäuren am wirksamsten, daß aber auch die Oxysäuren noch brauchbar sind, während sich die zwei- und mehrbasischen organischen und die starken anorganischen Säuren hierfür praktisch nicht eigenen. Es schien, daß eine quantitative Untersuchung der Wirksamkeit verschiedener Säuren auf die Membranbildung imstande sein müsse, den scheinbaren Widerspruch zwischen Dissoziationstheorie und physiologischer Wirksamkeit aufzuklären.

2. Methode der Versuche.

Für den praktischen Zweck der künstlichen Parthenogenese verfahre ich so, daß die Eier in eine Mischung von 50 ccm Seewasser und 3 ccm einer $^{n}/_{10}$-einbasischen Fettsäure, gewöhnlich Buttersäure, gebracht und von hier nach etwa 2 Minuten in normales Seewasser übertragen werden. Nach der Übertragung in normales Seewasser bilden alle Eier die Befruchtungsmembran. In dem angesäuerten Seewasser bildet sich keine Membran, weil die Wirkung der H-Ionen auf die Oberfläche des Eies den Prozeß hindert. Selbst wenn die Eier zu lange in dem angesäuerten

[1]) Loeb, l. c.

Seewasser bleiben, sind sie nach der Übertragung in normales Seewasser nicht mehr imstande, die Befruchtungsmembran zu bilden.

Für die quantitative Untersuchung der Wirksamkeit der Säuren müssen wir aber statt der Mischung von Seewasser und Säure eine Mischung von neutraler Chlornatriumlösung und Säure benutzen, da infolge der im Seewasser vorhandenen Carbonate und Phosphate ein Teil der Säure gebunden wird. Wenn nicht das Gegenteil ausdrücklich gesagt ist, so wurde in allen folgenden Versuchen die Säure zu einer mit dem Seewasser isosmotischen, d. h. halbgrammolekularen neutralen Lösung von NaCl zugefügt. In diese Lösung wurden die vorher durch zweimaliges Waschen in neutraler NaCl-Lösung von Seewasser befreiten Eier gebracht. Es wurde für jeden Versuch soweit als möglich dieselbe Menge von Eiern benutzt. Dann wurde in Intervallen von je 30 Sekunden eine Portion Eier mittels einer Pipette aus der Säurelösung in etwa 200 ccm Seewasser übertragen, und nachher wurde durch Zählen der Prozentsatz der Eier, welche Membranen bildeten, ermittelt.

3. Die Zunahme der Wirksamkeit der einbasischen Fettsäuren mit der Zahl der Kohlenstoffatome im Molekül.

Es war mir schon bei früheren Versuchen aufgefallen, daß Buttersäure und Valeriansäure wirksamer sind als Ameisen- oder Essigsäure. Es lag deshalb nahe, zu prüfen, ob die Wirksamkeit der Säuren für die Membranbildung mit der Zahl der Kohlenstoffatome zunimmt. Es wurden Versuche mit den Eiern desselben Weibchens angestellt, bei denen der Reihe nach $^n/_{1000}$-Lösungen der verschiedenen einbasischen Fettsäuren zur Verwendung kamen. Die Verdünnung der Säuren erfolgte mit NaCl-Lösung, so daß die resultierende Säurelösung mit dem Seewasser ungefähr isosmotisch, nämlich halbgrammolekular, war.

Die erste vertikale Reihe der Tabelle I gibt an, wie lange die Eier in der Säure verweilt hatten; die anderen vertikalen Reihen geben den Prozentsatz der Eier an, welche nach dieser Exposition in den verschiedenen Säuren Membranen bildeten.

Tabelle I.

Expositionsdauer	in $^{n}/_{1000}$.					
	Ameisensäure	Essigsäure	Propionsäure	Buttersäure	Caprylsäure	Nonylsäure
1 Min.	0	0	0	0	10%	100%
$1^1/_2$ "	0	0	0	$^1/_{10}$%	80%	
2 "	0	0	$^1/_{10}$%	10%	100%	
$2^1/_2$ "	0%	$^1/_4$%	20%	40%		
3 "	0%	5%	50%	90%		
$3^1/_2$ "	$1^1/_2$%	60%		95%		
4 "	30%		75%	100%		
$4^1/_2$ "	90%					
5 "	100%					

Man sieht, daß die Zeit, welche erforderlich ist, einen bestimmten Prozentsatz der Eier zur Membranbildung zu veranlassen, um so kürzer ist, je größer die Zahl der Kohlenstoffatome der Säure ist. Dieses Verhalten der Säuren ist analog dem Verhalten der Alkohole, deren narkotische und hämolytische Wirksamkeit ebenfalls für die Glieder derselben Reihe mit der Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome wächst.[1]) Bei den Alkoholen ist aber die Zunahme der Wirksamkeit eine viel raschere als die von uns bei den Säuren gefundene, indem nämlich nach Führer jedes folgende Glied der Reihe ungefähr zwei- bis dreimal so wirksam ist als das voraufgehende Glied.

4. Die Zunahme der Wirksamkeit der Säure mit der Konzentration.

Obwohl die Frage nach dem Einfluß der Konzentration der Säuren auf ihre Wirksamkeit nicht streng zu unserem Thema gehört, so sei doch der Vollständigkeit halber einiges hierüber mitgeteilt. Ich führe zwei Versuchsreihen, eine mit Buttersäure und eine zweite mit Benzoesäure, an. Wie gewöhnlich erfolgte die Verdünnung der Säure mit halbgrammolekularer Chlornatriumlösung.

[1]) Overton, Die Narkose, Jena 1901. — Führer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 52, 1904. — Vandevelde, Chem.-Zeitg. 30, 296.

Tabelle II. Buttersäure.

Expositions-dauer	$\frac{3}{5000}$ n	$\frac{4}{5000}$ n	$\frac{5}{5000}$ n	$\frac{6}{5000}$ n	$\frac{7}{5000}$ n	$\frac{8}{5000}$ n	$\frac{10}{5000}$ n
1/2 Minute	0	0	0	0	5%	5%	5%
1 "	0	0	14%	100%	100%	100%	100%
1 1/2 "	0	48%	95%				
2 Minuten	2%	60%	100%				
2 1/2 "	3%	95%					
3 "	5%						
4 "	30%						
5 "	40%						
6 "	80%						
7 "	90%						

Tabelle III. Benzoesäure.

Expositionsdauer	$\frac{12}{50000}$ n	$\frac{18}{50000}$ n	$\frac{24}{50000}$ n
1/2 Minute	0	0	30%
1 "	0	1/2%	100%
1 1/2 "	0	60%	
2 Minuten	0	100%	
3 "	0		
4 "	0		
5 "	0		
6 "	0		
7 "	0		
8 "	0		

Im allgemeinen ist es nicht möglich, durch Konzentrationen der Buttersäure, die unter $\frac{3}{5000}$ n liegen, eine Membranbildung hervorzurufen. Selbst Konzentrationen von $\frac{3}{5000}$ n Buttersäure sind meist wirkungslos. Ist man aber einmal zum Schwellenwert gelangt, so wird auch die optimale Konzentration rasch erreicht. Dasselbe beobachten wir bei der Benzoesäure, nur daß hier der Schwellenwert viel niedriger ist als für Buttersäure, nämlich $\frac{18}{50000}$ n.

5. Die individuellen Variationen der Säurewirkungen.

Wir wollen, ehe wir weiter gehen, darauf hinweisen, daß der Schwellenwert der Wirksamkeit einer Säure für die Eier

verschiedener Weibchen nicht genau derselbe ist. Wenn man die Wirksamkeit einer $\frac{n}{1000}$ Buttersäurelösung in Tabelle I und in Tabelle II vergleicht, so wird man einen Unterschied bemerken. In meinen jüngst veröffentlichten Versuchen über die Entwicklungserregung von Seeigeleiern durch das Blutserum von Warmblütern ist es eine stets wiederkehrende Beobachtung gewesen, daß diese Versuche nur bei den Eiern von einem Teile der Weibchen gelingen.[1]) Auch die Bastardierung von Seeigeleiern mit dem Samen von Mollusken gelingt nach Kupelwiesers und meinen Versuchen nicht mit den Eiern jedes Weibchens. Die Ursache für diese individuellen Schwankungen suche ich in Variationen der Durchgängigkeit der Eier verschiedener Weibchen für Säuren resp. Blut und Spermatozoen.

6. Die Wirksamkeit der Oxysäuren.

Overton gibt an, daß die narkotische Wirksamkeit der zweiwertigen Alkohole eine viel geringere als die der einwertigen Alkohole ist.[2]) Ich finde, daß die einbasischen Säuren dieser Reihe eine viel schwächere Wirkung auf die Membranbildung zeigen als die entsprechenden Glieder der Reihe der Säuren der einatomigen Alkohole. Als Belege seien Versuche mit Oxypropion- und β-Oxybuttersäure mitgeteilt.

Tabelle IV.

Expositionsdauer	Oxypropionsäure		β-Oxybuttersäure		
	$\frac{n}{500}$	$\frac{4n}{500}$	$\frac{n}{500}$	$\frac{2n}{500}$	$\frac{4n}{500}$
1 Minute	0	0	0	5%	100%
2 Minuten	0	2%	0	100%	
3 „	0	60%	8%		
4 „	0	90%			
5 „	0				

Aus einem Vergleich zwischen Tabelle II und IV geht hervor, daß β-Oxybuttersäure nur ein Viertel der Wirksamkeit

[1]) Loeb, Pflügers Arch. 118, 36, 1907; 122, 196, 1908; 124, 37, 1908.
[2]) Overton, l. c.

der Buttersäure besitzt. Ein Vergleich der Tabellen I und IV ergibt, daß die Propionsäure mehr als viermal so wirksam ist als die Milchsäure. Auch bei den Oxysäuren zeigt sich wieder die Zunahme der Wirksamkeit der Säuren mit der Zahl der Kohlenstoffatome, da die β-Oxybuttersäure viel wirksamer ist, etwa zweimal so wirksam als die Oxypropionsäure. Ein Vergleich der Mandelsäure mit der Benzoesäure ergab, daß die letztere etwa zehnmal so wirksam ist als die erstere.

Der Einfluß der Konstitution der Säure wird aber vielleicht am deutlichsten durch einen Vergleich der Wirksamkeit der β-Oxybuttersäure und der Oxyisobuttersäure. Die β-Oxybuttersäure ist mehr als viermal so wirksam als die Oxyisobuttersäure. Das hängt vielleicht damit zusammen, daß die β-Oxybuttersäure dieselbe Kohlenstoffverkettung hat wie die Buttersäure, während die Oxyisobuttersäure eine „verzweigte" Kohlenstoffkette hat.

7. Die Wirksamkeit zwei- und mehrbasischer organischer Säuren.

Die Versuche mit zwei- und mehrbasischen organischen Säuren bilden eine Geduldprobe, da man nicht mit Sicherheit auf Erfolg rechnen kann. Während Propion-, Butter- und Valeriansäure fast ausnahmslos die Membranbildung bei allen Eiern hervorrufen (vorausgesetzt, daß die Konzentration der Säure und die Expositionsdauer richtig gewählt sind), sind die zwei- und mehrbasischen organischen Säuren nicht bei den Eiern aller Weibchen wirksam. Diese Säuren verhalten sich also der Membranbildung gegenüber wie die membranbildenden Stoffe im artfremden Blutserum. Diese Analogie weist darauf hin, daß die zweibasischen Säuren deshalb eine geringere Wirksamkeit haben als die einbasischen, weil sie langsamer in das Ei eindringen. Denn offenbar ist der Grad der Durchgängigkeit bei den Eiern verschiedener Weibchen verschieden. In der nächsten Tabelle stelle ich die mit Oxalsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure und Zitronensäure an den Eiern eines besonders „günstigen" Weibchens gewonnenen Resultate zusammen.

Tabelle V.

Expositionsdauer	$\frac{1,7}{500}$ n Oxalsäure	$\frac{7}{500}$ n Bernsteinsäure	$\frac{7}{500}$ n Weinsäure	$\frac{4}{500}$ n Citronensäure
1 Minute	0	0	10%	0
2 Minuten	15%	0	100%	0
3 „	20%	0		10%
4 „	90%	0		60%
5 „	90%	2%		80%
6 „				90%

Bei dem Versuch, die hier vorliegenden Verschiedenheiten der Wirksamkeit begreiflich zu machen, müssen wir uns erinnern, wie viele Variabeln hier ins Spiel treten. Wir sahen erstens, daß mit der Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome die Wirksamkeit der Säure zunimmt; zweitens, daß der Eintritt einer HO-Gruppe die entgegengesetzte Wirkung hat; drittens, daß die „geradlinige" Verkuppelung der Kohlenstoffatome wirksamer ist als die „verzweigte". Alle diese und andere konstitutive Umstände werden wohl bei der Erklärung dieser anscheinend regellosen Säurewirkungen in Tabelle V in Betracht kommen. Für eine detaillierte Analyse reicht die Zahl der untersuchten Säuren nicht aus.

8. Die Mineralsäuren.

Für die Mineralsäuren gilt in noch höherem Grade als für die zweibasischen organischen Säuren die Erfahrung, daß dieselben nur bei den Eiern gewisser, aber nicht aller Weibchen die Membranbildung hervorzurufen imstande sind. Mit Schwefelsäure ist es mir überhaupt bis jetzt noch nicht gelungen, die Membranbildung beim Seeigelei zu veranlassen, mit HNO_3 und mit HCl ging es gelegentlich, aber nicht immer. Die günstigsten Resultate, welche ich mit diesen beiden Säuren je erzielt habe, sind in Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Expositionsdauer	$\frac{n}{500}$ HCl	$\frac{n}{500}$ HNO_3	$\frac{2n}{500}$ HNO_3	$\frac{3n}{500}$ HNO_3
1 Minute	0	0	5%	90%
2 Minuten	0	10%	90%	100%
3 „	1/10%	80%	100%	
4 „	10%	90%	100%	
5 „	20%	100%		
6 „	30%			
7 „	80%			
8 „	80%			
9 „	80%			
10 „	90%			

Gewöhnlich sind die Resultate mehr von der Art wie die in der nächsten Tabelle wiedergegebenen.

Tabelle VII.

Expositionsdauer	$\frac{15}{500}$ n HCl	$\frac{40}{500}$ n HCl
2 Minuten	0	20 %
3 „	¼ %	20 %
4 „	1 %	20 %
5 „	5 %	½ %
6 „	30 %	

Man erhält also das paradoxe Resultat, daß $^n/_{1000}$-Buttersäure viel wirksamer für die Hervorruung der Membranbildung ist als $^n/_{12}$-Salzsäure! Ein blinder Gegner der Dissoziationstheorie könnte sich kein besseres Material wünschen als das hier beigebrachte. Gleichwohl wäre es völlig verfehlt, diese Resultate gegen die Theorie der elektrolytischen Dissoziation zu verwerten. Den Beweis für diese Behauptung werden wir im nächsten Abschnitte erbringen.

9. Die Erklärung des scheinbaren Widerspruchs dieser Tatsachen mit der Dissoziationstheorie. — Chemische Konstitution und Giftigkeit der Säuren.

Der Widerspruch der hier mitgeteilten Tatsachen mit der Dissoziationstheorie ist nur scheinbar und findet seine Lösung durch die Berücksichtigung folgender zwei Umstände. Erstens kommt für die Hervorrufung der Membranbildung nur die in das Ei eingedrungene Säuremenge in Betracht, und zweitens ist die Geschwindigkeit, mit der die verschiedenen Säuren in das Ei dringen, eine Funktion ihrer chemischen Konstitution. Die Beweise für diese Behauptungen wollen wir nunmehr erbringen. Die Versuche über künstliche Parthenogenese lassen keinen Zweifel darüber, daß die Entwicklungserregung des Eies durch das Spermatozoon nur darauf beruht, daß das letztere gewisse chemische Substanzen ins Ei trägt, von denen eine die Hervorrufung der Befruchtungsmembran veranlaßt. Es läßt sich nun mit voller Sicherheit zeigen, daß für die Bildung der Befruchtungsmembran das Eindringen des Spermatozoons in das Ei nötig ist, daß aber die Berührung

der Oberfläche des Eies mit dem Samen keine derartige Wirkung hat. Auch wenn Tausende von Spermatozoen das Ei an der Oberfläche berühren, kommt es nicht zur Bildung dieser Membran, während dieselbe sofort gebildet wird, wenn auch nur ein einziges Spermatozoon in das Ei eindringt. Diese einfache Tatsache habe ich oft bei den Versuchen über heterogene Hybridisation mit Sicherheit feststellen können. Was nun für die membranbildende Substanz des Spermatozoons gilt, gilt auch für die Säuren. Für die Hervorrufung der Membranbildung kommt nur die Quantität Säure in Betracht, welche in das Ei eingedrungen ist.

Wenn das richtig ist, so sollte uns der Nachweis gelingen, daß die in dieser Arbeit nachgewiesenen Beziehungen zwischen Konstitution und physiologischer Wirksamkeit der Säuren in Wirklichkeit Beziehungen zwischen Konstitution und Geschwindigkeit der Absorption der Säuren durch das Ei darstellen. Wir wollen zwei Beweise hierfür beibringen, einen indirekten und einen direkten.

Der indirekte Beweis liegt darin, daß die Wirksamkeit der homologen Alkohole in Overtons, Fühner und Neubauers und die Wirksamkeit der Fettsäuren in unseren Versuchen parallel verlaufen. Nun haben Hans Meyer sowohl wie Overton darauf hingewiesen, daß die Wirksamkeit der Alkohole ihrem Teilungskoeffizienten für Lipoide und Wasser parallel läuft. Die relative physiologische Wirksamkeit der Alkohole muß also in erster Linie durch die relative Geschwindigkeit der Absorption derselben durch die Zelle bedingt sein, und die Analogie drängt auf eine ähnliche Annahme für die Säuren.

Der direkte Beweis ist folgender. Wenn es richtig ist, daß die schwachen einbasischen Fettsäuren deshalb für die Membranbildung wirksamer sind als die starken Mineralsäuren, weil die ersteren rascher vom Ei absorbiert werden, so muß es sich auch nachweisen lassen, daß die Fettsäuren viel giftiger für das Ei sind und dasselbe rascher töten als die Mineralsäuren; denn um das Ei zu töten, müssen die Säuren in das Innere desselben eindringen. Dieser Beweis läßt sich nun leicht in der Weise erbringen, daß man die Eier desselben Weibchens in verschiedene (durch halbgrammolekulare NaCl-

Lösung verdünnte) Säuren bringt und bestimmt, wie lange sie in den verschiedenen Säuren bleiben müssen, um ihre Befruchtung und Entwicklungsfähigkeit dauernd zu verlieren.

Um diese Versuche zu verstehen, müssen einige ausführliche Bemerkungen über die Beziehung der Membranbildung zur Entwicklung gemacht werden. Ruft man die Membranbildung beim unbefruchteten Seeigelei in irgendeiner Weise durch eins der für diesen Zweck geeigneten chemischen Mittel hervor, so beginnt die Entwicklung zwar, aber das Ei geht rasch zugrunde, ehe es das Larvenstadium erreicht. Die Ursache hierfür liegt darin, daß die Agenzien, welche die Membranbildung hervorrufen, das Ei in einem abnormen Zustand zurücklassen, von dem es sich erst erholen muß, ehe es für die weitere Entwicklung geeignet ist. Hindert man das Ei mehrere Stunden nach der künstlichen Membranbildung an der Entwicklung (indem man ihm den Sauerstoff entzieht, oder indem man die für die Entwicklung nötigen Oxydationen durch eine Spur Cyankalium hemmt), so können sich die Eier hinterher entwickeln. Man kann die Eier aber auch viel rascher wieder in den normalen Zustand zurückbringen, indem man sie etwa eine halbe bis dreiviertel Stunde bei Zimmertemperatur in sauerstoffhaltiges hypertonisches Seewasser bringt. Wenn man aber nur die Membranbildung beim Ei hervorruft und es dann bei Zimmertemperatur sich selbst überläßt, so fängt es zwar an, sich zu entwickeln, geht aber dann rasch zugrunde. Das alles sei hier nur erwähnt, weil es für das Verständnis der folgenden Vergiftungsversuche nötig ist.

Unbefruchtete Seeigeleier wurden nun in eine $^{n}/_{12}$-Lösung von HCl (in halbgrammolekularer NaCl-Lösung) gebracht und von hier nach Intervallen von je einer halben Minute in normales Seewasser übertragen und eine Probe derselben mit Samen befruchtet. Nur wenige hatten bei der Behandlung mit HCl Membranen gebildet, und diese gingen wie gewöhnlich alle zugrunde. Die Eier aber, welche bis zu 3 Minuten in $^{n}/_{12}$-HCl gewesen waren und keine Membranen gebildet hatten, bildeten auf Samenzusatz Membranen und entwickelten sich zu schwimmenden, wenn auch nicht sehr schönen Larven. Von den Eiern, welche 4 Minuten in der HCl-Lösung gewesen waren (und die nach der Übertragung keine Membranen

gebildet hatten), wurden durch Samen noch 20 % zur Entwicklung angeregt, und selbst nach 5 Minuten langem Verweilen in der $^n/_{12}$-HCl-Lösung wurden noch 10 % der Eier durch Samen befruchtet und zur Entwicklung angeregt. Es ist kaum nötig, zu erwähnen, daß geringere Konzentrationen von HCl noch viel ungiftiger waren.

Auch die für die Membranbildung wenig geeigneten zweibasischen Säuren, wie die Weinsäure, erweisen sich als recht ungiftig für das Ei. So z. B. wurden die Eier eines Seeigels, nachdem sie 4 Minuten in einer $^n/_{35}$-Weinsäurelösung gewesen waren, befruchtet, und alle entwickelten sich in völlig normaler Weise zu normalen Larven, mit alleiniger Ausnahme derjenigen Eier, welche eine Membran infolge der Behandlung mit Weinsäure gebildet hatten, und die wie gewöhnlich zugrunde gingen.

Ehe wir uns zu den Versuchen über die Giftigkeit der einbasischen Fettsäuren wenden, muß ich den Leser nochmals daran erinnern, daß die Eier keine Membran bilden, so lange sie in der Fettsäurelösung sind, sondern erst, nachdem sie in das (schwach alkalische) Seewasser übertragen sind; und ferner, daß die Membranbildung auch nach der Übertragung in das Seewasser dann ausbleibt, wenn die Eier zu lange in der Fettsäurelösung waren. In dem Falle dringt nämlich zu viel Fettsäure in das Ei, und das letztere kann keine Membran mehr bilden. Die folgende Tabelle gibt eine klare Anschauung von diesen Verhältnissen. Als Säure diente die Buttersäure.

Tabelle VIII.

Expositionsdauer	$\frac{n}{500}$	$\frac{2n}{500}$	$\frac{3n}{500}$	$\frac{4n}{500}$ Buttersäure
1 Minute	100 %	100 %	100 %	100 %
2 „	100 %	100 %	10 %	10 %
3 „	100 %	1 %	0	0
4 „		½ %	0	0
5 „		0	0	0

Man ersieht aus dieser Tabelle, daß die unbefruchteten Seeigeleier nicht mehr imstande sind, eine Membran zu bilden, wenn sie länger als 2 Minuten in einer $\frac{3n}{500}$ Lösung von Buttersäure (in halbgrammolekularer NaCl-Lösung) verweilen. Fügt

man nun zu derartigen Eiern nach der Übertragung in normales Seewasser Samen, so wird kein Ei befruchtet und keins entwickelt sich. Ich dachte zuerst, daß es sich um eine umkehrbare Säurewirkung handele, und daß die Eier nach längerem Verweilen im Seewasser sich zu erholen imstande wären. Aber das ist nicht der Fall. Zur Kontrolle wurden nun die Eier desselben Weibchens in eine $\frac{n}{50}$-Lösung von HCl gebracht. Die Eier blieben 4 Minuten in der Lösung. Keins bildete nach der Übertragung in normales Seewasser eine Membran. Aber auf Samenzusatz wurden 40% dieser Eier befruchtet und entwickelten sich in völlig normaler Weise.

Wir haben gesehen, daß Benzoesäure noch viel günstiger für die Hervorrufung der Membranbildung als Buttersäure ist. Dementsprechend sollten wir auch erwarten, daß sie giftiger ist. Das trifft auch zu. Eier wurden in eine $\frac{n}{500}$-Benzoesäurelösung gebracht. Nach je 1 Minute wurde eine Portion der Eier in normales Seewasser übertragen. Die nach 1 Minute aus der Benzoesäure in Seewasser übertragenen Eier bildeten alle eine Befruchtungsmembran. Die Eier aber, welche 2 Minuten oder länger in der Lösung der Benzoesäure verweilt hatten, bildeten keine Membranen. Diese Eier konnten aber auch nicht mehr befruchtet werden.

Gegen diese Versuche war nur ein Einwand möglich, nämlich, daß die Eier nicht durch die Fettsäure getötet, sondern nur für das Eindringen der Spermatozoen undurchgängig gemacht waren. Um diesen Einwand zu prüfen, wurden Eier zuerst mit Samen befruchtet und dann der Wirkung der erwähnten Säuren ausgesetzt. Befruchtete Eier, welche länger als 2 Minuten in einer $\frac{4n}{500}$-Buttersäurelösung gewesen waren, vermochten sich nach der Übertragung in Seewasser nicht mehr zu entwickeln.

Wir dürfen es demnach als sicher ansehen, daß der Einfluß der chemischen Konstitution auf die physiologische Wirksamkeit der Säuren darauf zurückzuführen ist, daß die Konstitution der Säuren die Geschwindigkeit ihres Eindringens in das Ei bestimmt. Der letztere Einfluß macht sich vielleicht in dem Sinne geltend, daß mit der Zunahme des Teilungs-

koeffizienten der Säuren für Öl und Wasser auch die Geschwindigkeit ihrer Absorption in die Eizelle zunimmt.

Eine Idee müssen wir aber bestimmt aufgeben, nämlich, daß die physiologische Wirksamkeit der Säuren durch die Diffusion des Wasserstoffions in das Ei bestimmt ist. Wäre das der Fall, so sollte die Wirksamkeit der Säuren der Konzentration der freien Wasserstoffionen entsprechen, was eben nicht der Fall ist. So liefern diese Versuche auch den Beweis, daß die Säuren in der Form der undissoziierten Moleküle in die Eizelle eindringen.

In meinen früheren Veröffentlichungen war ich bereits zu dem Schlusse geführt worden, daß bei der Hervorrufung der Membranbildung durch Säuren nicht die Wasserstoffionen, sondern entweder die Anionen der Säure oder die undissoziierten Säuremoleküle in Betracht kämen. Daß die Anionen der Säuren nicht für die Säurewirkung verantwortlich sind, geht daraus hervor, daß der Zusatz der Salze der Fettsäuren, z. B. des essigsauren Natriums oder buttersauren Natriums, keine Membranbildung veranlaßt. Ich werde an anderer Stelle zeigen, daß diese Salze nicht ganz unwirksam in dieser Richtung sind, aber die Größenordnung ihrer Wirksamkeit ist gering im Vergleich zu der Wirkung der Säuren. Das beweist, daß die letztere nicht auf der Diffusion der dissoziierten Anionen, sondern auf der Diffusion der undissoziierten Säuremoleküle beruhen muß.

10. Wie bewirkt die in das Ei eingedrungene Säure die Membranbildung?

Der scheinbare Zwiespalt zwischen der Dissoziationstheorie und der physiologischen Wirksamkeit der Säuren bei der Membranbildung rührt also daher, daß für diese Wirkung nur die in das Ei eingedrungene Säure in Betracht kommt, und daß die Geschwindigkeit der Absorption durch das Ei in ähnlicher Weise von der chemischen Konstitution der Säuren abhängt, wie das für die Alkohole der Fall ist.

Wir kommen nun zu der Besprechung einer Frage, die den Biologen mehr interessiert als den Chemiker, nämlich, wie die Säuren die Membranbildung veranlassen. Um den dieser Abhandlung zugemessenen Raum nicht zu überschreiten,

muß ich mich auf eine kurze Skizzierung der hier vorliegenden Möglichkeiten beschränken.

Wie wir schon erwähnten, findet die Membranbildung durch Säure nur dann statt, wenn die Eier in normales Seewasser übertragen werden.[1]) Aus dieser und ähnlichen Tatsachen folgt, daß die Wasserstoffionen die Membranbildung hindern. Diese Tatsache führt auf die Vermutung, daß nicht nur für die Absorption, sondern auch für die Membranbildung das undissoziierte Säuremolekül in Betracht kommt. Diese Vermutung findet eine Stütze in der Tatsache, daß, wie schon erwähnt, die Alkohole ebenfalls die Membranbildung hervorrufen, und daß der Einfluß der Konstitution der Alkohole auf die Hämolyse einen völligen Parallelismus mit dem Einflusse desselben Faktors bei der Säurewirkung auf die Membranbildung zeigt. Nun habe ich schon wiederholt darauf hingewiesen, daß die Membranbildung ein Durchgangsstadium bei der Cytolyse des Eises ist. Dieselben Agenzien, welche bei kurzer Anwendung nur eine Membranbildung im Ei hervorrufen, veranlassen bei etwas längerer Einwirkung Cytolyse, z. B. Saponin, Solanin, gallensaure Salze, Kohlenwasserstoffe, wie Amylen, Benzol, Toluol usw. Ich habe auch schon früher darauf hingewiesen, daß die höheren Fettsäuren ebenfalls Cytolyse veranlassen, z. B. Nonylsäure. Hier tritt die Cytolyse schon ein, während die Eier noch in der Säurelösung sind, was ich darauf beziehe, daß die Konzentration der Wasserstoffionen hier zu gering ist, um die starke cytolytische Wirkung der höheren Fettsäuren zu hemmen.

Alle diese Tatsachen und andere, zu deren Aufzählung hier der Raum fehlt, führen mich auf die Vermutung, daß die Fettsäuren bei der Membranbildung nicht durch die Wasserstoffionen, sondern durch eine Eigenschaft des undissoziierten Fettsäuremoleküls wirken, und zwar muß es sich um eine Eigenschaft handeln, welche diese Säuren mit den Kohlenwasserstoffen und den Alkoholen, ferner mit gewissen Glucosiden und anderen Verbindungen teilen. Bei der Verschiedenheit im

---

[1]) Fügt man Benzol oder Saponin zu dem Seewasser, so findet die Membranbildung statt, während die Eier in der Lösung sind und eine Übertragung derselben in normales Seewasser ist zu diesem Zwecke nicht nötig.

chemischen Charakter aller dieser Verbindungen ist die Möglichkeit einer rein physikalischen Wirkung aller dieser Stoffe (z. B. auf die Lipoide) in Betracht zu ziehen.[1]) Bei der Membranbildung wie bei der Cytolyse kann man direkt beobachten, daß ein Zusammenfließen feinster Tröpfchen zu größeren Tröpfchen stattfindet. Denken wir uns im Anschluß an Buetschli das Protoplasma als eine Emulsion aus feinsten Tröpfchen, so ist es für die Dauerhaftigkeit dieser Emulsion nötig, daß die Tröpfchen mit einer Oberflächenlamelle umgeben sind, welche das Zusammenfließen der Tröpfchen zu größeren Tropfen hindert. Es wäre denkbar, daß alle die Stoffe die Membranbildung und Cytolyse im Ei herbeiführen, welche diese Oberflächenlamelle der Tröpfchen lösen oder sonstwie beseitigen oder ändern und daher das Zusammenfließen derselben ermöglichen.

Dieser Annahme steht nur eine Schwierigkeit im Wege, nämlich, wie wir es damit in Einklang bringen können, daß auch starke Mineralsäuren nicht absolut unwirksam sind. Es ist aber durchaus denkbar, daß diese Gruppe von Säuren die Membranbildung nur indirekt veranlaßt, indem sie nämlich zunächst die im Ei enthaltenen Fettsäuren aus ihren Salzen frei machen und, indem dann die so freigemachten Fettsäuren die Membranbildung bedingen. Diese Annahme findet in folgender Beobachtung eine Stütze. Wenn man 2 oder 3 ccm HCl ($^n/_{10}$) zu 50 ccm Seewasser zusetzt und unbefruchtete Eier in diese Lösung bringt, so bilden die Eier nach der Übertragung in normales Seewasser keine Membranen. Ebensowenig kann man Membranbildung hervorrufen, wenn man zum Seewasser 2 oder 3 ccm $^n/_2$-Natriumbutyratlösung zusetzt. Setzt man aber beide Stoffe, nämlich HCl und Natriumbutyrat gleichzeitig zum Seewasser, so bilden die Eier nach der Übertragung in normales Seewasser Membranen. Dieses Resultat findet seine Erklärung in der Annahme, daß Buttersäure entstanden und in das Ei diffundiert ist. Es ist kein Grund anzunehmen, warum eine ähnliche Reaktion nicht auch stattfinden sollte, wenn HCl in das Ei eintritt.

---

[1]) Loeb, Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorgangs und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen, Leipzig 1908.

11. Schlußbemerkungen.

Wenn wir nun die Resultate der früheren Versuche über physiologische Säurewirkungen mit den hier besprochenen vergleichen, so finden wir, daß die älteren Versuche eine bessere Übereinstimmung mit der Dissoziationstheorie zeigen als unsere Versuche über die Membranbildung. Die Erklärung hierfür ist einfach genug, wenn wir berücksichtigen, daß für die physiologische Wirksamkeit der Säuren erstens ihre Absorption durch die Zelle nötig ist und daß für diese Absorption die undissoziierten Säuremoleküle und nicht die Wasserstoffionen in Betracht kommen. Die relative Durchgängigkeit ist für verschiedene Zellarten verschieden, und das erklärt einen Teil der Unterschiede in der Wirksamkeit der Säuren auf verschiedene Zellarten. Zweitens aber weisen unsere Versuche auf die Wahrscheinlichkeit hin, daß es neben der chemischen Wirkung der Säuren, welche auf den Wasserstoffion zurückzuführen ist, noch eine zweite gibt, welche auf das undissoziierte Säuremolekül zurückzuführen ist. (Diese letztere kann möglicherweise rein physikalischer Natur sein.) Bei der Hervorrufung der Membranbildung durch die Säuren kommt wahrscheinlich wesentlich die letztere Wirkung in Betracht, und daher tritt hier die Wirkung der Wasserstoffionen gegenüber dem Einflusse der Konstitution der Säuren zurück, während für andere physiologische Vorgänge die Wirkung der Wasserstoffionen das maßgebende ist.

Über das Schicksal von intravenös einverleibten Eiweiß-abbauprodukten.

Von

Ernst Freund und Hugo Popper.

(Aus dem pathol.-chem. Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung", Wien.)

(Eingegangen am 30. November 1908.)

Die Frage nach dem Unterschied in der Verwendung des dem Organismus enteral und parenteral zugeführten Peptons[1]) ist eigentlich niemals einer eingehenden Untersuchung unterzogen worden, weil die ersten Angaben über intravenöse Einverleibung dahin gingen, daß das injizierte Pepton rasch durch die Nieren ausgeschieden werde [Plosz und Gyergyai[2]), Schmidt-Mühlheim[3]), Hofmeister[4]), Neumeister[5])]; bezüglich des durch den Darm zur Resorption gelangenden wurde nachgewiesen, daß dasselbe schon in den Darmblutgefäßen nicht mehr nachweisbar sei, also wohl rückverwandelt oder weiter abgebaut worden sei [O. Cohnheim[6])].

Hierbei ist aber unklar geblieben, ob diese Veränderung lediglich als Funktion der Darmwand aufzufassen sei; denn es ist sicher, daß sofort bei Vermischung von Verdauungs-

---

[1]) Die diesbezügliche Literatur ist in den Ergebnissen der Physiologie 1908, 795 in dem Referat von Hugo Lüthje: „Die Eiweißregeneration im tierischen Körper" ausführlich dargestellt.

[2]) Plösz und Gyergyai, Pflügers Archiv 10.

[3]) Schmidt-Mühlheim, Arch. f. Anat. u. Physiol.; physiol. Abt. 1879.

[4]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 5.

[5]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. N. F. 9, 322, 1890.

[6]) O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 1901.

produkten mit Serum eine gewisse Rückverwandlung stattfindet (Hildebrandt)[1]), und daß hierbei zum mindesten die Protalbumosen nebst einem kleinen Teil weiter abgebauter Abfallsprodukte in koagulable Form übergehen [E. Freund[2])].

In welcher Form die entfernteren Abbauprodukte des Eiweißes zur Verwendung gelangen, konnte nicht entschieden werden (Knoop und Embden)[3]).

Die Experimente, die zur Entscheidung der Frage angestellt wurden, ob die Darmwand Albumosen und deren Abbauprodukte rückverwandle oder nicht, haben unklare Resultate geliefert, und, da jenseits der Darmwand biuretgebende, nicht koagulable Substanzen überhaupt nur in Spuren aufzufinden waren, ist die Annahme aufgetaucht, daß der normale Vorgang der Verdauung der sei, daß die Eiweißsubstanzen zu sog. abiureten Produkten abgebaut würden, und als solche zur Aufnahme in den Organismus gelangen (Cohnheim, Abderhalden). Die Untersuchungen des Darminhalts, die diesbezüglich gemacht worden sind, haben allerdings das Vorhandensein von weit abgebauten Produkten (Leucin, Tyrosin) stets ergeben, ohne aber über deren quantitatives Verhalten ein Urteil zu gestatten [Kutscher und Seemann usw.)[4]]. Sie leiden nämlich durchwegs an einem prinzipiellen Fehler, da sie, im Momente der Tötung des in Verdauung befindlichen Versuchstieres ausgeführt, nur das aufweisen, was noch nicht resorbiert wurde, und keine Einsicht gestatten, wieviel von den Nahrungssubstanzen in weniger zerschlagener Form schon resorbiert wurde.

Das gleiche gilt für die Untersuchungen an Fistelflüssigkeiten.

Mehr Klarheit könnten solche Versuche gewähren, bei denen der in der Verdauung getötete Organismus noch eine Zeitlang (ca. $^1/_2$ Stunde) sich selbst überlassen wird, weil die Verdauungsfermente noch weiter arbeiten, die Resorption aber gehindert ist, man also wirklich etwas über die quantitativen Verhältnisse des Abbaues erfährt. Diese Versuchsanordnung

---

1) Hildebrandt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18.
2) E. Freund, Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 47.
3) Knoop u. Embden, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 120 bis 136.
4) Kutscher und Seemann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34.

könnte nur den Fehler mit sich bringen, daß sie zu hohe Werte des Abbaues ergibt, weil ja Albumosen, die intra vitam sofort resorbiert werden, weiter zerschlagen werden können. Immerhin würde ein solcher Versuch einen ungefähren Wert für das Maximum des Abbaues ergeben.

Eine Reihe solcher Untersuchungen, von Laufer[1]) und Freund[2]) ausgeführt, haben ergeben, daß der Abbau bis zu den äußersten Bruchstücken (Aminosäuren) nicht die ganze Eiweißmasse, sondern höchstens 60% derselben betrifft, und dies hauptsächlich in den unteren Dünndarmpartien der Fall ist.

Die Bestrebungen, solche weitabgebaute Produkte nach ihrer Resorption durch die Darmschleimhaut im Organismus aufzufinden, leiden bekanntlich vor allem daran, daß dieselben selbst bei reichlicher Aufnahme im Organismus einer solchen Verdünnung unterliegen, daß die chemische Untersuchung sie nur in Spuren auffinden kann. Auch die Versuche, solche Produkte in maximaler Menge in den Darm einzuführen und dadurch eine ausgiebigere Resorption derselben zu erzielen, wie sie von Knoop und Embden angestellt worden sind, haben zu keinen eindeutigen Resultaten geführt, und so lag es nahe, die Einverleibung solcher Substanzen einmal parentral (intravenös) zu versuchen, um zu sehen, ob auch in diesem Falle die Abbauprodukte in gleicher Weise verschwinden wie bei ihrer Resorption aus dem Darmrohr, und eventuell nachzusehen, ob ein Übergang in koagulierbare Substanzen zu beobachten sei.

Da die Rückverwandlung bei Protalbumosen konstatierbar ist, lag die Möglichkeit vor, auch bei den weiter abgebauten Eiweißabkömmlingen einen solchen Aufbau zu finden.

Der Plan unserer Versuche war also, Eiweißabbauprodukte verschiedenen Grades in den Organismus zu injizieren, und ihr weiteres Schicksal zu verfolgen. Eine Schwierigkeit, welche diesen Versuchen von vornherein innewohnt, liegt in der Frage der Verteilung der injizierten Substanzen. Es ist a priori klar, daß die in das Blut injizierten Substanzen nicht daselbst verbleiben, sondern zum Teil in die Gewebe übertreten. Aus dieser Überlegung

---

[1]) Laufer, Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 5, 1901/1902, Heft 6.
[2]) E. Freund, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 1907.

ging die notwendige Folgerung hervor, auch die Organe der Versuchstiere vor und nach der Injektion einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen.

Eine weitere notwendige Forderung bestand darin, die Blutkörperchenzahl festzustellen, um Schwankungen der Blutzusammensetzung durch Einströmen von Wasser aus den Organen nicht zu übersehen.

Ein wertvoller Indikator schien uns in der Beigabe einer Substanz zu liegen, welche sich in den verschiedenen Geweben leicht verteilt und auch leicht analytisch nachweisbar ist. Als solche wählten wir Jodnatrium. Allerdings haben die Versuche gezeigt, daß sich das Jod anders wie unsere Injektionssubstanzen verteilt;[1]) dagegen hat uns die Lokalisation des Jodnatriums in manchen Organen oft einen Hinweis gegeben, ob unsere Versuchstechnik korrekt war oder nicht.

Es wäre wünschenswert gewesen, als Injektionssubstanz Körper zu benutzen, welche ein charakteristisches Kennzeichen gegenüber den Eiweißsubstanzen des Körpers an sich tragen, um dieselben bei der Organ- und Blutanalyse von den Eiweißsubstanzen des Organismus leicht und sicher unterscheiden zu können. Solche spezifische Eiweißkörper existieren ja, besonders unter den Pflanzeneiweißkörpern, und es ist, während unsere Untersuchungen im Gange waren, eine derartige Verwendung eines charakteristischen Eiweißkörpers zur Publikation gelangt [Borchardt[2])]. Wir haben auch daran gedacht, zu solchem Zweck veränderte Eiweißsubstanzen, wie nitrierte, jodierte [Hofmeister[3])], diazotierte [Obermayer und Pick[4])] zu verwenden. Schon mit Rücksicht auf die Schwierigkeit der Herstellung solcher Körper haben wir uns diese Versuche für eine spätere Zeit vorbehalten, und zunächst versucht, peptische und tryptische Verdauungsprodukte gewöhnlicher Eiweißkörper, allerdings in so großer Menge zu injizieren, daß wir annehmen durften, daß selbst bei der starken Verteilung im Organismus ein

[1]) s. auch O. Loeb, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 56, 325, 1907.

[2]) Borchardt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, Heft 6.

[3]) Hoffmeister, Ergebnisse d. Physiol. 4, 305.

[4]) F. Obermayer und E. P. Pick, Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 19

sicherer quantitativer Nachweis dieser Substanzen in 100 g Blut oder Körpersubstanz noch möglich sein müsse. Um über das Schicksal des veränderten (koagulierbar gewordenen oder abgebauten) Eiweißes klar zu werden, mußten sich demnach unsere Untersuchungen bei den Organ- und Blutanalysen auch auf die Fraktionen der Eiweißsubstanzen und deren Abbauprodukte erstrecken, um so festzustellen, ob in den bekannten Fraktionen des Eiweißes sowie in den Substanzfällungen mit Gerbsäure- und Phosphorwolframsäure auffallende Änderungen zustande kämen.

Dies bot zugleich die Sicherung, daß wir nicht durch allgemeine Schwankungen des Blutgehaltes getäuscht wurden, da diese doch sicherlich in allen Fraktionen in gleicher Weise zum Ausdruck hätten kommen müssen. Selbst für den Fall, daß unsere Untersuchungen bezüglich des Koagulierbarwerdens ein unbefriedigendes Resultat ergeben sollten, schien es uns wenigstens gewiß, daß wir über die Verteilung des injizierten Materials in den einzelnen Organen Aufklärung erhalten würden.

Versuchsanordnung.

Die wichtigste Vorbedingung für das Gelingen unserer Versuche war die Gewißheit, daß nichts von den injizierten Substanzen durch den Urin in Verlust gerate; gerade bezüglich des Peptons, das wir zunächst zu den Versuchen verwendeten, ist durch Angaben von Neumeister bekannt, daß es rasch durch den Urin ausgeschieden wird und nur bei Injektionen übergroßer Mengen ein Versiegen der Nierensekretion eintritt; wobei, wie Neumeister angibt, das Pepton in den Darm übertritt.

Die Versuche wurden in leichter Morphin-Äthernarkose ausgeführt.

Zunächst wurde die Arteria femoralis bloßgelegt, derselben zwei Portionen Blut zu 100 ccm und 60 ccm entnommen, von denen die erste mit $^1/_{10}$ Volumen $5\,^0/_0$iger Lösung von citronensaurem Natron aufgefangen, die andere der Gerinnung zur Gewinnung des Serums überlassen wurde.

Dann wurde eine isolierte Gruppe der Adductorenmuskulatur im Gewichte von ca. 60 g exstirpiert und die entsprechende Muskelgruppe der anderen Extremität nach Beendigung des Versuches zur Kontrolle entnommen.

Es wurde hierauf das Abdomen eröffnet und zunächst die Nierengefäße beiderseits abgebunden.

Dann wurde die Blase exprimiert (nach Vollendung des Versuches Kontrolle der Blase). Es erfolgte hierauf die Abbindung eines Leberlappens im ungefähren Gewichte von 40 g mittels wattierter Schnur, um nach dem Versuche zum Vergleiche mit einem nicht abgebundenen, korrespondierenden Stück der Leber dienen zu können.

In einigen Fällen wurde der Darm an der Gekröswurzel mit kräftigen Ligaturen abgebunden, in einzelnen Versuchen der Magen an der Kardia und am Pylorus ligiert.

Nun wurde die Injektionsflüssigkeit im Laufe von 4 bis 5 Minuten in die Schenkelvene eingebracht, in den meisten Fällen Eiweißlösungen vom Stickstoffgehalt entsprechend ca. 900 ccm $^n/_4$-Lauge (ca. 3 g N).[1])

Regelmäßig waren wenige Minuten nach der Injektion die bekannten Giftwirkungen des Peptons zu konstatieren, die in den ersten Fällen auch zum Tode des Tieres im unmittelbaren Anschluß an die Injektion führten; bei den späteren Versuchen leisteten mehrfache Injektionen von Coffein. nat. salicyl. à 0,2 gegen die Herzerscheinungen gute Dienste.

Nach Verlauf von 20 Minuten bis zu einer Stunde wurde das Tier durch Entbluten aus der Schenkelarterie getötet und das Blut in gleicher Weise zur Untersuchung verwendet wie bei Beginn des Versuches.

In den Blutproben vor und nach dem Versuche wurden Erythrocyten und Leukocyten gezählt. Auch der Inhalt des Darmes wurde mehrfach zur Untersuchung entnommen.

Die Methoden der Bestimmungen waren folgende:

Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (2×2 ccm)

Untersuchung der stickstoffhaltigen, nicht koagulablen Substanzen aus 100 ccm Blut:

100 ccm Blut wurden mit dem doppelten Volumen 1⁰/₀iger ganz schwach mit Essigsäure angesäuerter Kochsalzlösung

---

[1]) Um den Angaben der Stickstoffwerte in Dezimalen zu entgehen, gebrauchen wir im nachfolgenden für dieselben direkt die Kubikzentimeter-Anzahl $^n/_4$-Lauge, welche bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verbraucht wurden.

koaguliert, gewaschen und auf das ursprüngliche Blutvolumen eingeengt. Von dem eiweißfreien Filtrat wurde $^1/_4$ zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, die Hälfte zur Fraktionierung mittels Gerbsäure und Phosphorwolframsäure verwendet.

Als Grenzreaktion der nicht koagulablen Eiweißabkömmlinge gegenüber Eiweißsubstanzen, welche der Koagulation entgangen waren, wurde die $^1/_3$-Sättigung mit Zinksulfat bei einem Gehalt von 0,4$^0/_0$ Schwefelsäure benutzt, wobei nach Zunz[1]) und Gläßner[2]) Acidalbumin und Globin in den Niederschlag übergehen.

Bei den Organuntersuchungen wurde so vorgegangen, daß die betreffenden Organteile nach Abwägung zerkleinert, in Leinwand eingebunden und durch Auspressen unter Wasser vom Bindegewebe und Gefäßen befreit wurden.

Die kolierten trüben Auszüge wurden auf Volumen gebracht und sowohl Gesamtstickstoff als N der nicht koagulablen Substanzen nach der oben angegebenen Methode bestimmt.

Bei Bestimmung der Eiweißfraktionen, die in diesen Auszügen hie und da vorgenommen wurden, wurde so vorgegangen, daß die trüben Auszüge zunächst zu $^1/_3$ mit Ammonsulfat gesättigt wurden, wodurch in die $^1/_3$-Sättigung auch die Zellreste mit einbezogen waren, beim Wiederauflösen dieser Fällung blieben die Zellreste auf dem Filter. Die Filtrate der $^1/_3$-Sättigung wurden $^1/_2$ gesättigt, die Filtrate dieser Fraktion koaguliert.

In einigen Fällen wurde wegen des verschiedenen Blutgehaltes die Bestimmung des Blutfarbstoffes resp. des Hämatingehaltes durchgeführt.

Bezüglich der näheren Ausführung sei noch bemerkt, daß wir uns an einer Reihe von Fällen überzeugt haben, daß die vom selben Material vorgenommenen Fraktionierungen mit Gerbsäure, Phosphorwolframsäure sowie die mit Ammonsulfat genügend übereinstimmende Resultate lieferten oder zum mindesten so geringfügige Differenzen aufwiesen, daß sie nicht in Betracht kommen gegenüber jenen Differenzen, die wir als verwertbare Unterschiede in unseren Untersuchungen angesehen haben.

---

[1]) Zunz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 217.

[2]) K. Gläßner, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 328.

Vorversuche.

Die ersten Versuche bezogen sich auf die Kontrolle der Neumeisterschen Angaben:[1]) Das Tier ging wie beim Neumeisterschen Versuche in 5 Minuten ein. Die Untersuchung des Darminhaltes auf Pepton ergab ein fast negatives Resultat, differierend von der Angabe Neumeisters.

Jedenfalls war dadurch um so mehr Veranlassung gegeben nachzusehen, wo und eventuell in welcher Form das injizierte Pepton im Organismus deponiert war.

Wie die nachstehende Tabelle 5 zeigt, läßt zunächst die Untersuchung der Organe erkennen, daß in denselben um diese Zeit keine wesentliche Änderung im Reststickstoffgehalt stattgefunden hat.

Muskeln und Leber geben keine Unterschiede, in Nieren, Milz und Darminhalt findet sich überhaupt keine Menge Reststickstoff, die merklich in Betracht kommt.

Auch der immerhin auffallend hohe Gehalt der Darmwand an Reststickstoffsubstanzen repräsentiert nur einen ganz geringen Teil der injizierten Menge.

Das nach dem Versuch entnommene Blut zeigt einen Wert für stickstoffhaltige, nicht koagulable Substanzen, der etwa achtmal größer ist als vor dem Versuch, eine Vermehrung, die nicht vielleicht auf einer Konzentration beruht, da der Wert für Gesamtstickstoff eine Verminderung zeigt; es ist im Gegenteil eine Verdünnung des Blutes, resp. Vermehrung der Blutmenge anzunehmen. Ohne nun im nachfolgenden eine genaue Berechnung der aus diesem Befunde ableitbaren Vermehrung der nicht koagulablen Substanz im Blute herleiten zu wollen, sei es doch gestattet, eine schätzungsweise Aufstellung darüber zu geben, welcher ungefähre Prozentsatz des injizierten Materiales im Blute noch aufzufinden ist.

Wir haben einem Hunde von 8,5 kg Gewicht eine Menge stickstoffhaltiger Substanz im Werte von 900 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge injiziert. Davon finden wir zunächst im Harn 113 ccm. (In unseren ersten Versuchen unterblieb die Nierenabbindung, weil

[1]) Neumeister l. c.: „Als ich einem großen narkotisierten Hunde, welchem 24 Stunden das Futter entzogen worden war, schnell etwa 30 g Pepton in die Vena jugularis injizierte, enthielt der Dünndarm des unmittelbar darauf verbluteten Tieres eine konzentrierte Peptonlösung.“

5. Versuch. 8,5 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 30% Wittepeptonlösung. Exitus nach 5 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Nieren	Milz	Darmwand	Darminhalt	Harn	30% Peptonlösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach						
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	50 g	50 g	340 g	200 ccm	15 ccm	100 ccm
Gesamtstickstoff	670,0	610,0	240,0	280,0	—	—	—	—	—	—	113,3	900 „
N der eiweißfreien Filtrate	7,2	56,8	36,5	51,2	92,0	88,0	21,6	34,0	176,8	24,0		
N der Gerbsäure-Niederschläge											85,0	

8. Versuch. 7,5 kg gefütterter Hund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Wittepeptonlösung. Exitus nach 5 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Nieren		Darm		Darminhalt		30% Peptonlösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	20 g	20 g	100 g	100 g	100 ccm	100 ccm	80 ccm
Gesamtstickstoff	820,0	650,0	589,3	602,1	194,2	208,5	92,0	101,0	260,0	160,0	—	—	800,0
N des eiweißfreien Filtrates	15,2	78,4	94,8	97,1	44,6	45,7	20,4	22,0	28,8	40,0	8,8	10,4	
N der Gerbsäure-Niederschläge	10,2	46,6											
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	fällt nichts aus	7,4											
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	3,4	15,6											

Die nachstehenden Zahlen der N-Werte bedeuten hier und später die Anzahl der bei der Bestimmung nach Kjeldahl verbrauchten Kubikzentimeter $^{n}/_{4}$-Lauge.

wir mit der auch tatsächlich eintretenden fast völlig versiegenden Urinsekretion bei Injektion großer Peptonmengen rechneten.) Wir haben also im Organismus ca. 800 ccm zu suchen.

Für ein Depot in den Organen findet sich nach unseren Zahlen kein Anhaltspunkt; nur in der Darmwand könnte man eine Menge von etwa 150 ccm deponiert annehmen.

Im Blute finden wir in 100 ccm ca. 50 ccm Reststickstoff-Vermehrung; bei einem 8,5 kg schweren Hunde dürfen wir 600 ccm Blut annehmen, es berechnet sich also die Gesamtmenge im Blut auf 325 ccm, so daß wir kaum die Hälfte des ins Blut injizierten Materiales in demselben nachweisen können. Ein gleiches Ergebnis weist der oben zitierte Versuch 8 auf.

Diese 50 % Manko, die aus der Rechnung resultieren, boten für uns etwas Überraschendes.

Es ist naheliegend, daß man dasselbe leicht auf zweierlei Weise erklären kann. Entweder dadurch, daß man annimmt, daß die injizierte Menge sich nicht nur im Blute, sondern in einer größeren Flüssigkeitsmenge verteilt hat, oder, daß man annimmt, daß ein relativ großer Teil der injizierten Substanz in koagulable Form übergegangen ist.

Wir haben, ohne zunächst Anhaltspunkte für die eine oder andere Annahme zu suchen, aus diesem Befunde die Notwendigkeit erkannt, uns orientieren zu müssen, in welcher Art sich stickstoffhältige Substanzen, die einer Umänderung in koagulierbare Substanz nach unserem Wissen nicht mehr zugänglich sind, im Organismus verteilen.

In dieser Beziehung schien uns die Injektion von Hippursäure und Harnstoff am praktischsten.

Bei einem 8,5 kg schweren Hunde wurden 90 ccm Hippursäurelösung entsprechend 315 ccm $^n/_4$-Lauge injiziert, der Hund nach 20 Minuten entblutet.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ergab nun die Untersuchung des Blutes in 100 ccm eine Vermehrung an nicht koagulablen Substanzen im Werte von nur 7,6 ccm $^n/_4$-Lauge. Unter der gewöhnlichen Annahme einer Blutmenge von $^1/_{13}$ des Körpergewichtes ergeben sich für die ganze Blutmenge berechnet ca. 50 ccm $^n/_4$-Lauge.

Nehmen wir, wie aus den Zahlen des Gesamtstickstoffes und der Erythrocyten hervorgeht, dabei noch hinzu, daß in

Versuch 19 (Hippursäure).

8 kg Hungerhund. Abbindung des Magens, des Darmes und der Nieren. Injektion von Hippursäure. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Hippursäure-Lösung 15 %
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im cmm	6360000	3120000					
Zahl der Leukocyten im cmm	10600	3800					
Gesamt-Stickstoff . .	890,0	515,0	688,0	694,0	200,0	170,0	315,0
N der eiweißfreien Filtrate	8,8	16,4	62,2	71,1	64,0	52,0	

diesem Falle eine Verdünnung des Blutes um fast die Hälfte stattgefunden hat, so ergibt dies 100 ccm, also kaum den 3. Teil des injizierten Materiales.

Die Untersuchung der Organe zeigt, wie die Tabelle lehrt, geradezu minimale Differenzen, beim Muskel sogar eine Verringerung der nicht koagulablen Substanz. Dabei sind diese Veränderungen gleichsinnig sowohl im Gehalt der koagulablen als nicht koagulablen Substanz, so daß man sie wohl nur auf Konzentrationsdifferenzen beziehen kann.

Die kleine Vermehrung, die der nicht koagulable Anteil der Leber zeigt, fällt nicht in die Wagschale, da es sich nur um 240 g Leber handelt, also eine Summe von 20 ccm.

Demnach sind die Ergebnisse dieses Versuches nicht anders zu deuten als durch die Annahme, daß sich $^2/_3$ der injizierten Hippursäure in den Organen verteilt haben.

Daß die Analysen der Organe diese Verteilung der Hippursäure nicht erkennen lassen, liegt daran daß die Hippursäure im Werte von ca. 200 ccm $^n/_4$-Lauge sich in der Gewebsflüssigkeit des Tieres, also ca. 5 kg verteilt haben muß, so daß für 100 g Organ die Vermehrung nur 2 bis 3 ccm betragen könnte, welche Werte innerhalb der Fehlerbreite liegen.

Ein ähnliches Resultat hat der Versuch mit Harnstoff ergeben.

Versuch 20 (Harnstoff).

8,5 kg Hungerhund. Magen, Darm und Nieren abgebunden. Injektion von Harnstofflösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Harnstoff-Lösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im ccm	7680000	6120000					
Zahl der Leukocyten im ccm	12000	7800					
Gesamtstickstoff . .	925,0	785,0	765,3	772,0	160,0	200,0	1180,0
N der eiweißfreien Filtrate	11,2	28,8	69,3	90,6	60,6	72,0	

Injiziert wurde Harnstoff im Werte von 1180 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge.

In 100 ccm Blut des 8,5 kg schweren Hundes finden sich ca. 17 ccm Extraktivstickstoffvermehrung.[1])

Stellen wir die frühere Rechnung wieder auf, so ergeben sich für 600 ccm Blut 102 ccm Vermehrung; vergrößern wir diese Zahl um den Verdünnungsfaktor des Blutes ($^{1}/_{5}$), so kommen wir zu ca. 120 ccm, was also dem zehnten Teil der injizierten Menge entspricht.

Es sind also $^{9}/_{10}$ der injizierten Substanz gleich ca. 1000 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge in den Organen verteilt, d. h. in der Gewebsflüssigkeit von ca. 5 kg; es kämen also auf 100 g Körperflüssigkeit nahezu 20 ccm, resp. auf 100 g Organ Harnstoff im Werte von ca. 16 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge. Damit stimmen die Organanalysen ziemlich gut überein, da für die Leber eine Zunahme von fast 20 ccm, in den Muskeln von ca. 10 ccm zu konstatieren ist. Im Mittel entsprechen diese Zunahmen der Vermehrung des Reststickstoffes im Blut, es ergeben also unsere Versuche, daß sich Harnstoff bei in dieser Weise bewerkstelligten Überflutung nahezu in der ganzen Gewebsflüssigkeit ziemlich gleichmäßig verteilt.

Mit Rücksicht darauf, daß von den injizierten krystalloiden Substanzen so viel mehr aus dem Blut in die Gewebe über-

[1]) Mit Rücksicht auf die Zersetzbarkeit des Harnstoffes wurde in diesem Falle, gleichwie in einer entsprechenden Kontrolluntersuchung, welche die Bestimmbarkeit eines 2%igen Harnstoffzusatzes zu Blut ergab, jede Einengung unter 60° vorgenommen.

getreten war, ein Vergleich mit den Peptonversuchen also nicht mehr gut möglich war, haben wir eine andere kolloide Substanz, den Leim, zur Injektion gewählt, von dem wir ebenfalls annehmen durften, daß ein Übergang in koagulable Substanz ausgeschlossen sei.

Versuch 22 (Leim).

8,5 kg Hungerhund. Abbindung der Nieren. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 20 % Leimlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Leimlösung 20 %
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	90 ccm
Zahl der roten Blutkörperchen im ccm	8112000	6152000					
Zahl der Leukocyten im cmm	12000	5700					
Gesamt-Stickstoff .	960,0	810,0	827,5	883,5	168,0	152,0	756,0
N der eiweißfreien Filtrate	13,6	61,6	298,6	318,2	72,0	60,0	
N der Gerbsäure-Niederschläge . .	3,0	48,6	72,4	88,8			
N der Phosphorwolframs. Niederschläge	minimal	minimal	64,0	83,1			
N der Phosphorwolframs. Filtrate . .	9,0	10,8	168,8	140,4			

Es findet sich im Blute unter der Annahme von ca. 600 ccm Blutmenge nur etwa die Hälfte der injizierten Leimsubstanz.

Es ergibt sich demnach, daß auch beim Leim, ähnlich wie beim Pepton, durch Verteilung in den Organen, etwa die Hälfte der injizierten Menge aus dem Blute verschwindet.

Eine Wiederholung dieses Versuches bei abgebundenem Darm zeigte ein fast gleiches Verteilungsergebnis.

Kontrollversuche, bei denen wir den Leim extra corpus dem Blute zufügten, haben, wie die nachstehende Tabelle zeigt, ergeben, daß sich bei unserer Methodik die zugefügte Menge Leim fast vollkommen wieder gewinnen ließ.

	100 ccm Blut	20 ccm Leim	100 ccm Blut und 20 ccm Leim vereinigt
Gesamtstickstoff	1122,5	187,4	—
N der eiweißfreien Filtrate . .	13,3		191,0

Da uns beim Leim ein Übergang in koagulable Substanz ausgeschlossen erschien, können wir den gleichen Verlust, den die Versuche mit Peptoninjektion aufweisen, nur auf Verteilung beziehen, und wir mußten als Basis unserer weiteren Untersuchungen annehmen, daß schon unmittelbar nach der Injektion nur mehr ca. die Hälfte des injizierten Materiales im Blut aufzufinden sei, und die Fragestellung vereinfachte sich somit dahin, welche Veränderungen diese Größe innerhalb der gewählten Versuchszeit (20 Minuten) zeige, respektive deren Abhängigkeit vom Fütterungszustande und von der Darmwand-Passage.

Bevor wir zu dieser Prüfung übergehen, erscheint es uns nötig zu besprechen, ob das Blut bei den 5 Minuten-Versuchen (5 und 8) außer der absoluten Vermehrung der nicht koagulablen Substanzen noch andere Veränderungen aufweise.

Die Verminderung des Gesamtstickstoffes nach der Injektion von Pepton hat für den ersten Blick etwas Auffallendes und bedarf einer kurzen Besprechung.

Wird doch, wie z. B. im Versuch 8, in das Blut eine Flüssigkeit von genau gleichem Stickstoffgehalt injiziert. Für die trotzdem eintretende Herabminderung des Gesamtstickstoffes gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten.

Einmal könnte es sich um ein Einströmen von Wasser aus den Geweben in das Blut handeln; dafür ergeben unsere Organanalysen in diesen Fällen[1]) keine Anhaltspunkte.

Berücksichtigt man, daß der Stickstoffgehalt des Blutes sich aus zwei Faktoren verschiedener Wertigkeit, den Blutkörperchen und dem Blutplasma, zusammensetzt, von denen die Blutkörperchen ungefähr doppelt so reich an Stickstoff sind, so ist es klar, daß bei Injektion einer Flüssigkeit, die dem Mittel beider entspricht, noch immer eine Verminderung des Gesamtstickstoffes resultiert.

Mit dieser Annahme stimmt es auch wohl überein, daß im Falle 5 diese Verminderung weniger zum Ausdruck gelangt, wo die Gesamtstickstoffzahl des Blutes vor dem Versuche mit ihrem geringen Werte schon anzeigt, daß es sich um ein wässeriges Blut gehandelt hat.

[1]) In anderen Fällen konnte eine Wasseraufnahme aus den Geweben konstatiert werden.

In bezug auf die Frage, ob Veränderungen der injizierten Substanz im Sinne eines Abbaues in dieser kurzen Zeit vor sich gegangen seien, zeigt der Versuch 8 das Vorhandensein eines mäßigen Abbaues des injizierten Materials. Während in diesem der Gerbsäure-Niederschlag fast 90% des Gesamtstickstoffes enthält, und das Phosphorwolframsäure-Filtrat den zwanzigsten Teil, also 5%, enthält der Gerbsäure-Niederschlag der nicht koagulablen Substanz im Blut nach der Injektion ca. 60% und das Phosphorwolframsäure-Filtrat 20% des Rest-N. Der Einwand, den man gegen die letztere Schlußfolgerung erheben könnte, daß das Blut während der 5 Minuten seinen Gehalt an Abbauprodukten normalerweise so stark erhöht hätte, ist nicht nur von vornherein sehr unwahrscheinlich, sondern hat sich auch ganz unstichhaltig erwiesen durch einen späterhin noch zu erwähnenden Versuch, bei dem wir lediglich Kochsalz injiziert haben, und nach dem Versuch keine wesentliche Vermehrung der Abbauprodukte gefunden haben.

Ein weiterer Einwand gegen die Annahme eines stattgehabten Abbaues der injizierten Substanz wäre folgender: Die Verringerung der Gerbsäure-Fraktion und Vermehrung der Phosphorwolframsäure-Fraktion könnte auch nicht durch Abbau, sondern durch eine ungleichmäßige Verteilung dieser Fraktionen zustande gekommen sein, etwa so, daß die durch Gerbsäure fällbaren Substanzen sich in einem größeren Gebiet verteilt hätten als die durch Phosphorwolframsäure fällbaren.

Dies widerspricht aber den Verhältnissen, die wir bei den zitierten Harnstoff- und Leimversuchen gefunden haben, bei denen gerade die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Anteile die größere Verteilung im Organismus gezeigt haben.

Auch die einfache Berücksichtigung der gefundenen Zahlen läßt den Schluß auf einen stattgehabten Abbau zu, weil sich allein im Blute mehr an durch Phosphorwolframsäure nicht fällbarer Substanz findet, als mit der ganzen Injektionsflüssigkeit einverleibt wurde (für 500 ccm Flüssigkeit berechnet sich der Gehalt an durch Phosphorwolframsäure nicht fällbarer N-haltiger Substanz mit 60 ccm, während von solcher nur eine Menge im Werte von 56 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge injiziert wurden).

Peptoninjektionsversuche (Versuchsdauer 20 Minuten).

A. Ohne Darmausschaltung.

Die bisherigen Versuche hatten also erwiesen, daß bei Peptoninjektion ins Blut durch bloße Verteilung im Organismus schon nach 5 Minuten ca. 40 bis 50% aus dem Blute verschwinden.

Unsere weiteren Versuche bezogen sich nun darauf, nachzusehen, welche qualitativen und quantitativen Veränderungen nach 20 Minuten gegenüber dem Stande nach 5 Minuten zu konstatieren seien.

Diese Versuche gliederten sich in solche an Tieren mit unbeeinflußter Darmtätigkeit und solche mit Ausschaltung des Darmes durch Abbindung desselben, wobei in jeder Gruppe sowohl hungernde als gefütterte Tiere zur Beobachtung gelangten.

Zunächst seien jene Versuche besprochen, bei denen Hungerzustand bestand und der Darm nicht ausgeschaltet war.

Die Nieren waren im zunächst beschriebenen Falle nicht abgebunden, doch kam ein Verlust durch die Nieren hier kaum in Betracht, weil, wie uns die Erfahrung zeigte, bei genügend rascher Peptoninjektion ein fast vollkommenes Versiegen der Nierensekretion eintritt. Die geringen Mengen von Urin, die sich vorfanden, kamen zur Untersuchung und sind in der Tabelle verzeichnet.

Bei Injektion von Peptonlösung entsprechend 787,5 ccm $^n/_4$-Lauge findet sich bei diesem Versuch nach 20 Minuten im Blute eine Zunahme des Stickstoffes des eiweißfreien Filtrates um 21,6 ccm, also immerhin viel weniger als bei den zitierten Versuchen 5 und 8 der Fall war.

Die Betrachtung des Gesamtstickstoffes und der roten Blutkörperchen zeigt die Verdünnungsverhältnisse, die schon unmittelbar nach der Injektion zu konstatieren sind, so daß wir die Konzentrationsverhältnisse gewiß den früheren Versuchen gleichstellen können.

Für 100 ccm Blut ist also in den 15 Minuten des Versuches eine Menge nicht koagulablen stickstoffhaltigen Materials im Werte von ca. 30 ccm $^n/_4$-Lauge nicht mehr nachweisbar geworden; das ist für 9,5 kg Körpergewicht, also ca. 700 ccm

Blut berechnet, ca. 210 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge (entsprechend ca. 6 g der injizierten Albumosen). Es sind also im Blute nur mehr 19% der injizierten Menge an nicht koagulablem Material vorhanden, gegenüber den 50%, welche nach 5 Minuten zu finden waren.

Die Durchsicht der Leberzahlen vor und nach dem Versuch gibt in diesem Falle so geringe Differenzen, daß dieses Manko von 200 ccm dadurch nicht erklärt erscheint.

Die Werte für Niere, Milz und Darminhalt sind so gering, daß sie gar nicht in Betracht kommen.

4. Versuch.

9,5 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 30% Peptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Nieren	Milz	Darminhalt	Pept.-Lösung 30%
	vor	nach	vor	nach				
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	40 g	20 g	100 ccm	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im ccm	7680000	6320000						
Gesamtstickstoff	940,0	850,0		410,5				788,5.
N d. eiweißfreien Filtrate	8,0	29,6	32,0	49,8	8,0	6,0	15,6	
N der Gerbsäure-Niederschläge	3,6	18,0	16,0	17,2	4,0	2,8	2,4	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	fällt nichts aus	6,8	fällt nichts aus	7,1	fällt nichts aus	fällt nichts aus	3,2	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	4,8	7,2	20,0	20,8	4,8	3,6	10,4	
N der Zinksulfat-Niederschläge	4,0	14,8	16,0	12,6	4,0	2,8	2,4	

Man muß demnach den Verbleib der restlichen Substanzmenge entweder in den koagulierbaren Anteilen des Blutes oder der Organe suchen, sofern sie nicht im Harn in abgebauter Form ausgeschieden wurden. Im vorliegenden Falle ist diese letztere Möglichkeit, wenn auch, wie erwähnt, unwahrscheinlich, so doch durch einen Versuchsfehler nicht ganz zu bestreiten. (Die Blase wurde nach Beendigung des Versuchs nicht kontrolliert.)

Jedenfalls hat mit dem injizierten Material auch eine qualitative Veränderung stattgefunden, wie sich aus dem Vergleich der Gerbsäure-Niederschläge ergibt, welcher zeigt, daß nur ca. 20% des im Blut vorhandenen Rest-N in durch Gerbsäure fällbarer Form vorhanden sind, während im injizierten Pepton fast 90% in solcher Form nachweisbar sind. Es ergibt sich somit eine bedeutende Abnahme des durch Gerbsäure fällbaren Anteils.

Es wäre wünschenswert gewesen, zu eruieren, ob sich Anhaltspunkte für einen Übergang des fehlenden, nicht koagulablen Anteiles der Injektionsflüssigkeit in koagulierbare Anteile des Blutes finden lassen.

Nun bereitet aber die Verdünnung des Blutes eine Schwierigkeit, und man könnte nur Rechnungen aufstellen, ob die Verdünnung der koagulablen Anteile genau parallel geht mit der Verdünnung des Blutes, die sich in den Blutkörperchenzahlen zeigt, oder ob sie geringer ist, in welch letzterem Fall man ja auf eine Vermehrung des koagulierbaren Anteiles schließen könnte.

Bei dieser Sachlage schien es uns vor jeder weiteren Schlußfolgerung notwendig, festzustellen, welche Änderung der Blutzusammensetzung durch die bloße Injektion einer gleichen Flüssigkeitsmenge nach 20 Minuten gesetzt würde. Zu diesem Zwecke haben wir bei einem Versuche unter den gleichen Bedingungen 90 ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert.

Die nachstehende Tabelle gibt die erhaltenen Veränderungen wieder.

13. Versuch.

7,5 kg gefütterter Hund. Darm ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 0,06% Kochsalzlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut vor	Blut nach
Menge des Blutes	100 ccm	100 ccm
Zahl der Erythrocyten im cmm	7560000	6040000
Zahl der Leukocyten im cmm	10400	
Gesamtstickstoff	965,0	830,0
N der eiweißfreien Filtrate	17,5	15,2
N der Gerbsäure-Niederschläge	—	3,6
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	—	minimal
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	—	12,4

7. Versuch.

8 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Wittepeptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Nieren		Darm		Darminhalt		Milz	Harn		30% Peptonlösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach		vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	40 g	25 g	100 g	100 g	100 ccm	100 ccm	25 g	10 ccm	20 ccm	80 ccm
Gesamtstickstoff	910,0	800,0	696,0	680,0	105,0	150,0	152,0	104,0	133,7	152,4			88,0	34,0	72,0	856,0
N der eiweißfreien Filtrate	14,8	40,6	73,6	72,0	20,0	23,0	15,2	20,6	16,4	15,5	38,8	14,4	14,4			
N der Gerbsäure-Niederschläge														2,6	3,3	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge														2,5	2,6	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate														27,6	68,3	

9. Versuch.

7 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von zweimal 90 ccm 30% Wittepeptonlösung. Versuchsdauer je 20 Minuten.

	Blut			Leber	Muskel	Harn			30% Peptonlösung	
	vor	nach 1	nach 2	nach	nach	vor	nach 1	nach 2	1. Injektion	2. Injektion
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	10 ccm	10 ccm	10 ccm	90 ccm	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im ccm	7840000	7160000	5560000							
Gesamt-Stickstoff	960,0	1010,0	975,0	560,0	138,4	28,0	32,0	26,0	972,0	1003,5
N der eiweißfreien Filtrate	12,0	42,0	80,0	110,0	24,6					
N der Gerbsäure-Niederschläge	3,2	20,0	44,0	60,0	6,1					
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	1,2	6,4	8,8	13,3	13,7					
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	8,0	16,0	28,0	37,3	29,5					
N der Zinksulfat-Niederschläge		16,0	24,0	36,0	4,9					

Die Injektion dieser Flüssigkeitsmenge hat eine Verminderung der Erythrocyten von 7500000 auf 6000000 ergeben, das ist um 20 %, und eine Herabsetzung des Gesamtstickstoffes von 965 auf 830, das ist um $^1/_7$; der Rest-N sinkt von 17,5 auf 15,2, also um ca. $^1/_7$.

Aus diesen Daten allein ist schon ersichtlich, daß die Verdünnung an und für sich keineswegs jene Veränderungen nach sich zieht, die wir bei den Peptoninjektionen gefunden haben. Es war also durch den Vergleich der beiden Versuche immerhin nahegelegt, beim Peptonversuch eine Vermehrung der koagulierbaren Substanz anzunehmen.

Um einen positiven Anhaltspunkt zu finden, haben wir das Serum auf die drei Fraktionen des Eiweißes (Euglobulin-, Pseudoglobulin- und Albumin-Gehalt) untersucht, indem wir annahmen, daß ein Koagulierbarwerden der fraglichen Anteile doch nicht alle drei Fraktionen in gleicher Weise betreffen werde.

Die Untersuchung gibt nun, wie die am Schlusse befindliche Tabelle zeigt, keine vollkommene Aufklärung.

Es ist zwar der Pseudoglobulin-Anteil mehr erhöht als die anderen Anteile, doch sind die gefundenen Differenzen nicht genügend groß, um als Deckung für das fragliche Manko zu dienen.

Der 7. Versuch gibt in seinen Hauptzahlen nur eine Bestätigung des bisher Gefundenen.

Nur bezüglich der Untersuchung der Leber, die in diesem Falle genau vorgenommen wurde, möchten wir darauf hinweisen, daß eine immerhin nennenswerte Zunahme des Pseudoglobulin-Gehaltes nachzuweisen war, die um so auffallender ist, als der Euglobulin- und insbesondere der Albumingehalt eine Abnahme zeigen. (Siehe Schlußtabelle.)

Auch der 9. Versuch zeigt das gleiche Ergebnis in bezug auf den im Blut verbleibenden, nicht koagulablen Anteil.

Bei diesem Versuch kann deutlich erkannt werden, daß die Ausscheidung in den Harn nicht die Ursache des Verschwindens von injizierter Substanz ist, denn die in den Harn übergegangene Menge entspricht einem Werte von nur 32 ccm $^n/_4$-Lauge. Auch die Zahlen von Leber und Muskeln lassen ähnliche Schlüsse wie in den besprochenen Versuchen zu. In diesem Falle ist uns aber noch ein weiterer Einblick in die

Vorgänge gestattet. Es wurde nämlich 20 Minuten nach der ersten Injektion eine neuerliche Peptoninjektion in gleicher Menge wie die erste vorgenommen.

Es war dabei gewiß interessant nachzusehen, was mit dem Pepton geschehe in einem Augenblick, wo doch sicherlich der Organismus mit solchen Substanzen übersättigt war.

Die Analyse hat nun gezeigt, daß nach der zweiten Injektion der Vorgang des teilweisen Verschwindens der injizierten Substanz sich wiederhole und auch von der zweiten Menge von injizierten 1000 ccm nur mehr ca. 40 ccm pro 100 ccm Blut zu

12. Versuch.

14 kg gefütterter Hund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Wittepeptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Harn		30% Peptonlösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	100 ccm	30 ccm	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im cmm	6320000	5480000							
Gesamtstickstoff	925,0	895,0	720,0	672,0	186,0	235,5	235,5	66,0	872,0
N der eiweißfreien Filtrate	10,4	25,2	50,4	51,2	36,4	43,5			
N der Gerbsäure-Niederschläge	3,8	12,4	17,6	18,8	2,2	4,4	10,0	2,1	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	1,0	4,6	11,2	9,6	9,8	13,3	13,0	3,75	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	6,0	10,6	20,4	24,0	24,0	28,0	214,0	60,75	

finden sind und daß sich auch ein ähnlicher Prozentsatz der Veränderung in den durch Gerbsäure fällbaren Substanzen zeigt.

Nun ist, wie die Analyse der Serum-Eiweißfraktionen ergibt, kein zwingender Nachweis zu führen, daß das injizierte Material im Blutserum in koagulable Form übergegangen sei. Dagegen darf man bei der zweimaligen Injektion als auffallend bezeichnen, daß, während die Menge der Blutkörperchen um fast den fünften Teil vermindert ist, also auch wirklich eine Verdünnung um $^1/_5$ angenommen werden kann, der Gesamtstickstoff fast gar keine Verminderung zeigt.

Da der nicht koagulable Anteil in diesem Falle die gleiche Zunahme zeigt wie nach der ersten Injektion, nach der nur eine geringe Verdünnung erfolgte, so darf man hierin wohl eine Vermehrung der koagulablen Substanz im Blute (in den Blutkörperchen) sehen.

Dieser Versuch zeigt, wenn man das Gewicht des Tieres von 14 kg auf 7 kg reduziert, fast die gleiche Zunahme des Extraktivstickstoffes im Blut.

Auch die Verhältniszahlen des N der Gerbsäurefällung zum Rest-N entsprechen dem vorangegangenen Versuch.

Die Zahlen des Phosphorwolframsäure-Filtrates und die Harnzahlen zeigen einen ähnlichen Abbau wie in den früheren Versuchen.

Die Zahlen der Leber- und Muskeluntersuchung lassen keinen Schluß auf eine stattgehabte Zunahme eines ihrer Bestandteile zu.

Die Zunahme der Muskelwerte nach der Injektion ist auf die verschiedenen Bestandteile zu gleichmäßig verteilt, als daß man sie als etwas anderes als Konzentrationseffekt auffassen könnte.

Auch bei diesem Versuche findet sich wieder ein Manko von 300 ccm und wiederum die geringe Verminderung des Gesamtstickstoffes im Blute.

Zufolge der Verdünnung, die die Blutkörperchenzählung angibt, die also ungefähr $^1/_7$ beträgt, würden wir eine Herabminderung des Gesamtstickstoffes von 925 auf 800 ccm erwarten. Wir finden aber 895.

Es ist dies ein ähnliches Vorkommnis wie in dem Falle Versuch 9, wo ebenfalls zum Unterschiede von einer Reihe anderer Versuche eine Zunahme des Gesamtstickstoffes zu konstatieren ist, die im Widerspruche steht zu der durch die gleichzeitige Blutkörperchenzählung konstatierten Verdünnung des Blutes.

In beiden Fällen zeigt sich in der Organuntersuchung kein Anhaltspunkt für den Verbleib des Mankos, und es wäre also immerhin daran zu denken, ob nicht auch hier die fehlenden 300 ccm im Blute in koagulierbare Substanz übergegangen wären.

15. Versuch.

12 kg gefütterter Hund. Darm abgebunden. Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von Peptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Darminhalt		30 % Peptonlösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	oben	unten	
Gewicht der Organe . .	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	50 ccm	50 ccm	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im ccm	8240000	6800000							
Zahl der Leukocyten im cmm	15400	2200							
Gesamtstickstoff . . .	950,0	920,0	760,0	920,0	176,0	256,0			988,0
N der eiweißfreien Filtrate	12,0	34,0	100,0	132,0	55,1	76,4	12,0	7,6	
N der Gerbsäure-Niederschläge	5,6	18,4	36,0	48,0	7,1	8,8	3,2	2,4	877,6
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	2,0	3,6	10,0	16,0	8,8	23,1	1,6	0,8	56,0
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate . . .	5,6	11,2	54,0	68,0	40,8	46,2	8,0	4,4	56,0

Die Versuche 6 und 15 haben gemeinsam, daß der Darm ausgeschaltet war, ohne daß der Magen gleichzeitig ausgeschaltet gewesen wäre; sie zeigen in der Vermehrung des Rest-N im Blute die gleichen Verhältnisse wie die bisherigen Versuche, d. h. bei Reduktion des Körpergewichtes auf 7 kg eine Zunahme entsprechend ca. 30 ccm $^n/_4$-Lauge auf 100 ccm Blut.

In den Organanalysen finden sich keine derartigen Unterschiede, die für eine beträchtliche Ablagerung beweisend wären. Dabei ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß bei der großen Menge des Organeiweißes geringe Zunahmen unserer Untersuchung entgangen sind.

Die Verdünnung des Serums macht es in beiden Fällen schwierig, ein Urteil darüber zu gewinnen, ob die koagulierbare Substanz vermehrt ist. Die Untersuchungen der Fraktionen des Serums lassen auffallenderweise in beiden Fällen erkennen, daß zum Unterschiede der Verminderung des Albumins, sowohl Eu- als Pseudoglobulin relative oder absolute Zunahme zeigen. Es sei darauf besonders deshalb hingewiesen, weil auch in diesem Falle trotz der Verdünnung des Blutes (von 8200000 Erythrocyten auf 6800000) die Zahlen des Gesamt-N fast unverändert

6. Versuch.

7,3 kg Hungerhund. Darm abgebunden. Magen nicht ausgeschaltet. Injektion 90 ccm 30 % Wittepeptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Nieren	Milz	Darm	Darm-inhalt	Harn	30 % Pepton-lösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach						
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	45 g	30 g	290 g	150 ccm	10 ccm	90 ccm
Gesamtstickstoff	865,0	750,0	490,0	326,2							27,0	864,0
N der eiweißfreien Filtrate	8,4	36,8	116,0	75,0	72,0	62,0	33,2	28,8	116,0	17,2		
N der Gerbsäure-Niederschläge	3,2	22,0	52,0	28,1	10,0	10,0	14,4	13,2	44,8	4,0	1,6	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	fällt nichts aus	6,8	18,0	10,0	20,0	20,0	4,4	5,2	18,4	2,0	6,2	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	5,2	8,4	48,0	36,0	42,0	34,0	14,0	11,6	52,0	12,0	18,7	
N der Zinksulfat-Niederschläge	3,2	gesprungen	50,0	22,5	8,0	8,0	11,6	10,4	24,0	4,0		

geblieben sind, also eine Vermehrung der koagulablen Substanzen an zunehmen ist.

Außerdem zeigt die Berücksichtigung des Gerbsäure niederschlages im eiweißfreien Filtrate des Blutes, daß eine relative Verminderung der durch Gerbsäure fällbaren Substanzen stattgefunden hat.

Es stehen also diese Versuche in bezug auf diese Veränderungen den Versuchen 4, 7, 9 und 12 ganz nahe.

B. Peptoninjektionsversuche bei ausgeschaltetem Darm.

Wir kommen nun zu einer Gruppe von drei Versuchen, welche das Gemeinsame haben, daß bei ihnen Darm und Magen in exakter Weise abgebunden waren.

Bei diesem Versuch finden wir 52,8 ccm Vermehrung des Extraktivstickstoffes im Blute, wovon 73 % durch Gerbsäure fällbar sind, was den Zahlen der injizierten Peptonlösung ziemlich nahe kommt. Für die Gesamtmenge des Blutes (ca. 540 ccm) entspricht die Vermehrung 285 ccm.

13. Versuch.

7 kg gefütterter Hund. Darm und Magen ausgeschaltet. Injektion von 1. 100 ccm 0,6% NaCl-Lösung. Versuchsdauer 20 Minuten. Injektion von 2. 80 ccm Peptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut			Leber	30% Pepton-lösung
	vor	nach 1	nach 2		
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 ccm	100 g	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter	7560000	6040000	4320000		
Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter	10400		1800		
Gesamtstickstoff	965,0	830,0	695,0	675,0	920,0
N der eiweißfreien Filtrate .	17,5	15,2	68,0	76,3	
N der Gerbsäure-Niederschläge		3,6	41,6	22,3	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge		minimal	8,4	13,6	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate		12,4	19,2	40,9	

16. Versuch.

12 kg gefütterter Hund. Magen und Darm abgebunden. Injektion von 30% Peptonlösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Darminhalt		30% Pepton-lösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	oben	unten	
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	100 ccm	100 ccm	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter . . .	6600000	5280000							
Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter . . .	8200	1000							
Gesamtstickstoff .	835,0	630,0	832,0	1099,8	128,0	229,3			916,0
N der eiweißfreien Filtrate	14,4	57,6	104,7	141,0	51,5	76,4	26,4	28,8	
N der Gerbsäure-Niederschläge .	7,2	38,4	43,6	53,8	10,6	12,4	6,4	6,4	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	2,0	3,2	18,9	13,0	7,1	7,1	4,0	6,4	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	4,8	14,8	52,3	74,1	35,0	56,8	17,2	16,4	

Es sind also ca. 30% der injizierten Menge von 900 ccm im Blute nachweisbar, demnach weit mehr als in den Versuchen ohne Darmausschaltung (bei Versuch 4 ca. 19%).

Es stimmen somit alle angeführten Zahlen dieses Versuches mit der Annahme überein, daß bei exakt abgebundenem Darm und Magen der größte Teil der nach 5 Minuten im Blute noch nachweisbaren injizierten Substanz in demselben auch nach 20 Minuten in nicht koagulierbarer Form verbleibt.

Es findet sich hier eine Zunahme von 73,4 ccm Extraktivstickstoff im Blute; der durch Gerbsäure fällbare Anteil beträgt 73%.

14. Versuch.

8 kg Hungerhund. Magen und Darm abgebunden. Injektion von Peptonlösung. Versuchsdauer 15 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Peptonlösung 30%
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	80 ccm
Zahl der Erythrocyten in cmm	6480000	5760000					
Zahl der Leukocyten in cmm	9800	1000					
Gesamtstickstoff	1070,0	835,0	473,1	726,8	204,0	268,0	1072,0
N der eiweißfreien Filtrate .	10,4	101,6	106,3	104,0	76,0	104,0	
N der Gerbsäure-Niederschläge	2,0	72,8	21,7	30,8	7,2	11,2	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	0,8	8,0	8,0	16,0	22,4	33,6	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	8,8	21,2	78,8	59,4	48,4	59,2	

Dieser Versuch weist uns die größte Vermehrung der nicht koagulablen Substanz im Blute auf, nämlich ca. 102 ccm $^n/_4$-Lauge auf 100 ccm Blut; es würde dies ca. 50% der injizierten Menge entsprechen, was auch bei Berücksichtigung der etwas kürzeren Versuchsdauer auffallend hoch erscheint.

Mit Rücksicht auf diesen hohen Wert sei an dieser Stelle besonders darauf hingewiesen, daß ein Irrtum hier dadurch ausgeschlossen erscheint, daß wir nicht nur die gesamte Größe des Reststickstoffes bestimmt haben, sondern auch dessen Fraktionen, deren Summierung ja die Kontrolle zum Gesamtwert bietet.

Es schien also auch bei diesem Versuche schon nach Berechnung der Gesamtmenge des Reststickstoffes im Blute nur eine sehr geringe Veränderung des injizierten Materiales stattgefunden zu haben.

Eine Bestätigung dieser Annahme ist darin zu finden, daß die Gerbsäurefällung 77% beträgt, während in den früheren beschriebenen Versuchen mit offenem Darm nur 60%, also jedenfalls kein so starker Abbau stattgefunden hat.

Eine weitere Bestätigung der Annahme, daß in diesem Falle wenig Veränderung des injizierten Materiales stattgefunden hat, liefert die Betrachtung der Zahlen des Phosphorwolframsäure-Filtrates.

Erscheint auch der Zuwachs des Phosphorwolframsäure-Filtrates mit 12,5 ccm zunächst relativ hoch gegenüber dem Versuch 12, wo bei offenem Darm nur eine Zunahme von 4 ccm pro 100 ccm Blut zu konstatieren ist, so ergibt die Rechnung des Prozentverhältnisses der Harnstoffvermehrung gegenüber der Gesamtmenge der nicht koagulablen stickstoffhaltigen Substanz, daß in dem Versuch 14 überraschend wenig von dem injizierten Material in diese Harnstofffraktion übergegangen sei; es zeigt sich, daß dies gegenüber 27% bei Versuch 12, bei Versuch 14 nur 13% ist.

Auch die Zahlen des Gesamtstickstoffes zeigen einen wesentlichen Unterschied, wenn man sie in Vergleich setzt mit einem Versuch (Nr. 9), bei dem bei offenem Darm fast die gleiche Peptonmenge injiziert wurde.

Während dort trotz der Verdünnung um ca. 20% (nach der Abnahme der Erythrocyten beurteilt) der Gesamtstickstoff auf gleicher Höhe geblieben ist, ist im Falle 14 bei einer Verdünnung des Blutes um ca. 11% eine Verringerung des Gesamtstickstoffes um 20% eingetreten.

Nun ist es zwar nicht möglich, in absoluter Weise das Gleichbleiben des Gesamtstickstoffes in Versuch 9 auf Vermehrung der koagulablen Substanz zu beziehen und aus der Verringerung des Gesamtstickstoffes bei Versuch 14 das Ausbleiben der Eiweißvermehrung zu erschließen, doch mag es gestattet sein, auf die große Divergenz der beiden Versuche in dieser Beziehung hinzuweisen, weil diese Annahme ja doch die Ergänzung zu den Befunden bietet, die die große Vermehrung

der nicht koagulablen Substanz bei den Fällen mit abgebundenem Darm darbieten: bei Versuch 9 relativ geringe Menge Stickstoff des eiweißfreien Filtrates und hoher Gesamtstickstoff; also wohl viel koagulables Material.

Bei Versuch 14 relativ große Menge des nicht koagulablen Stickstoffes und dafür Verminderung des Gesamtsickstoffes.

Die Leberanalyse bei Versuch 14 zeigt, ohne daß die nicht koagulable Substanz wesentlich ansteigen würde, eine Zunahme des Gesamtstickstoffes, die also auf eine Zunahme des Eiweißes zu beziehen wäre.

Die auffallende Höhe der Rest-N-Zunahme im Muskel könnte durch einen Teil des injizierten Materiales bedingt sein. Ein sicherer Schluß läßt sich deshalb nicht ziehen, weil auch alle anderen Bestandteile eine beträchtliche Zunahme zeigen, also sicherlich eine Konzentration stattgefunden hat.

Zusammenfassung.

Wir wollen nun in einem Überblick über die bisherigen Versuche uns die ursprüngliche Frage vorlegen, was das Schicksal der injizierten Substanzen geworden sei. Wie schon erwähnt, besteht die Möglichkeit, daß diese Substanzen einfach im Organismus verteilt werden, daß sie abgebaut oder zum Aufbau verwendet wurden.

Wir wollen uns zunächst mit der Frage der Verteilung beschäftigen. Maßgebend für dieselbe sind vor allem unsere 5-Minuten-Versuche (Nr. 5 und 8) resp. die Injektionsversuche mit Harnstoff, Hippursäure und Leim. Wir haben aus ihnen ersehen, daß je nach der injizierten Substanz eine spezifisch verschiedene Verteilung stattfindet, und daß insbesondere bei den kolloiden Substanzen durch die bloße Verteilung schon ca. 50 % der injizierten Substanz aus dem Blute verschwinden. Es erübrigte also nur die Frage nach dem Schicksal jener Menge, die außer diesen 50 % nach 20 Minuten verschwindet. Wir haben bei einzelnen Versuchen gefunden, daß von der injizierten Substanz nach dieser Zeit nur mehr 20 % nachweisbar sind, und unsere Hauptfrage richtet sich also dahin: Ist dieses zwischen 5 und 20 Minuten aus dem Blut erfolgende Verschwinden von injizierter Substanz ebenfalls auf Verteilung zu beziehen oder nicht? Schon für den ersten Moment hat

die Annahme der einfachen Verteilung nicht viel Wahrscheinlichkeit für sich; mit Sicherheit spricht der Versuch (Nr. 9) mit zweimaliger Peptoninjektion dagegen, bei dem wir so viel in den Organismus injiziert haben, daß unter der Annahme einer bloßen Verteilung im ganzen Organismus die Organanalyse sehr deutliche diesbezügliche Ausschläge hätte geben müssen. Reine Verteilung können wir also ausschließen.

Was nun den Abbau der injizierten Substanzen anlangt so zeigt der Vergleich der Fraktionen des Reststickstoffes der injizierten Flüssigkeit und des Blutes nach den Versuchen, daß in diesen Fraktionen Veränderungen stattgefunden haben, und zwar im Sinne einer Vermehrung von Substanzen, die der Harnstoff-Fraktion näher stehen. Über die Größe dieses Abbaues läßt sich schwer ein sicheres Urteil gewinnen. Die Werte des Phosphorwolframsäure-Filtrates geben keine auffallend hohen Vermehrungen für die Abbauprodukte im Blute; und auch bei den Organen finden wir geringe Differenzen, so daß eine besondere Zunahme dieser Fraktion nicht anzunehmen ist; abgesehen von der Unwahrscheinlichkeit, daß in 15 Minuten so große Mengen ganz zu Harnstoff abgebaut worden sein sollten, läßt sich auch als Hinweis dafür, daß sich im Organismus keine einem solchen exzessiven Abbau entsprechenden Harnstoffmengen vorfinden, anführen, daß die Untersuchung des Harnes, der in einzelnen Fällen sezerniert wurde, nicht wesentlich höhere N-Zahlen aufwies, als die des Kontrollharnes.

Für die Frage eines Koagulierbarwerdens des Materials liefern unsere Untersuchungen einzelne Anhaltspunkte.

Es gibt eine Reihe von Tatsachen, deren Deutung nicht leicht möglich ist ohne die Annahme, daß ein Teil des injizierten Materiales in koagulierbare Form übergegangen ist.

Vor allem, daß die Erhöhung des Gesamt-Stickstoffes des Blutes, die in einzelnen Versuchen zu finden ist, verhältnismäßig größer ist als die Zunahme der nicht koagulablen Substanz, weiters, daß die Untersuchung des Serums zeigt, daß die Zunahme oder die Verdünnung der einzelnen Fraktionen nicht in gleicher Weise stattfindet, sondern, daß insbesondere die Globuline eine relativ stärkere Zunahme aufweisen als das Albumin, und drittens, daß die Untersuchung der Leber in

einzelnen Fällen eine Zunahme des Gesamt-Stickstoffes sowohl als gewisser Fraktionen der koagulablen Substanz aufweist.

In der nachstehenden Tabelle haben wir nun zum Schlusse unsere Versuche in jener Reihenfolge zusammengestellt, wie sie sich nach der Menge der im Blute auftretenden Vermehrung an nicht koagulablem Material gruppieren.

Übersichts-Tabelle
der gefundenen Werte unter Reduktion des Körpergewichtes der Versuchstiere auf 7 kg.

Nummer des Versuches	A Absolute Vermehrung des Rest-N in 100 ccm Blut	B Absolute Vermehrung der durch Gerbsäure fällbaren Anteile der Rest-N-Vermehrung in 100 ccm Blut	Prozent-Verhältnis von A : B	Darm-Zustand
14	105,0	80,9	77	abgebunden
16	74,0	53,5	72	„
13	50,5	38,0	75	„
15	37,7	21,9	58	Magen offen abgebunden
6	29,6	19,6	60	Magen offen
9	29,6	16,8	56	offen
12	29,6	17,2	58	„
7	29,5			„
4	29,3	19,5	60	„

Zu Vergleichszwecken wurden die Werte auf ein Durchschnittsgewicht der Tiere von 7 kg berechnet. Die Rubrik der Gesamtzunahme zeigt auf einen Blick, daß die großen Zahlen der Rubrik A Tieren angehören, deren Darm und Magen abgebunden war. Die vier letzten Versuche mit ihren niedrigen Zahlen von 33 bis 22 absteigend gehören Tieren an, deren Darm nicht ausgeschaltet war.

Die Versuche 15 und 6 betreffen Tiere, bei denen zwar der Darm abgebunden, der Magen aber offen blieb, und bei denen der positive Befund des Jods im Magen den Schluß zuläßt, daß die Einwirkung des Verdauungstraktes resp. des Magens möglich war; sie stehen also in der Mitte zwischen beiden Gruppen.

Der Einwand, es könnten diese Differenzen einfach dadurch hervorgerufen sein, daß sich die injizierte Substanz bei den Versuchen mit abgebundenem Darm in einem geringeren Volumen verteilt habe, wird dadurch hinfällig, daß sich an den zitierten Leimversuchen (abgebundener und offener Darm) ein solcher Unterschied nicht gezeigt hat, daß ferner die Bestimmung der Eiweiß-Abbaufraktionen auch einen qualitativen Unterschied ergibt.

Die Durchsicht der Rubrik, „N-Wert der durch Gerbsäure fällbaren Substanzen" zeigt nämlich bei den ersten drei Versuchen größere Werte (22 bis 77 %) der nicht koagulablen Substanz als durch Gerbsäure fällbar. Die übrigen Versuche zeigen Werte, die um 60 % schwanken, also im ganzen wesentlich geringer sind als bei den drei erst zitierten, so daß auch hier ein Unterschied zwischen den Tieren mit abgebundenem und offenem Darm zu konstatieren ist, und zwar in dem Sinne, daß bei abgebundenem Darm viel weniger von den nicht koagulablen Substanzen dem Abbau unterliegt. — Bei offenem Darm verschwinden also von den noch nach 5 Minuten vorfindlichen 50 % des injizierten Materiales mehr als die Hälfte, so daß nur 15 bis 20 % desselben noch nachweisbar sind, während bei abgebundenem Darm die restierenden 30 % fast zur Gänze erhalten bleiben.

Außerdem zeigt sich, daß bei offenem Darm von diesem Material ca. 32 % so weit abgebaut werden, daß sie durch Gerbsäure nicht mehr fällbar sind, während bei abgebundenem Darm diese Abbaufähigkeit so verringert ist, daß nur ca. 12 bis 18 % in diese Form übergegangen sind.

Bei dem eindeutigen Resultat dieser Versuche in bezug auf diese Verwertung des injizierten Peptons ist nicht zu zweifeln, daß ein kardinaler Unterschied darin gelegen ist, ob dem injizierten Material die Möglichkeit geboten ist, die Darmwand zu passieren oder nicht.

Es handelt sich dabei nicht darum, daß die injizierten Substanzen als körperfremde durch den Darm ausgeschieden werden, sondern, wie wir an dem bei offenem Darm erfolgenden Abbau erkennen, auch um eine Verwertung derselben nach Passage der Darmwand.

Injektionsversuche mit weiter abgebautem Verdauungsmaterial.

Eine Reihe von Versuchen wurde mit weiter abgebauten Verdauungsprodukten angestellt. Die Darstellung derselben geschah bei den ersten Versuchen in der Weise, daß Muskelfleisch zunächst der peptischen, dann durch mehrere Stunden der tryptischen Verdauung unter Toluolzusatz überlassen wurde. (Das Toluol wurde nach der Verdauung wieder entfernt.) Hierbei resultierten Flüssigkeiten, welche einen von der Neutralisation der zugesetzten Salzsäure herrührenden, zu großen Kochsalzgehalt aufwiesen. Mit Rücksicht darauf wurden bei den letzten Versuchen die Lösungen nach der peptischen Einwirkung der Dialyse unterzogen; es resultierte dann ein Kochsalzgehalt von ca. 0,9 %.

Wie die Analyse ergab, war der Abbau ein weitgehender; es zeigte sich dies auch daran, daß die Flüssigkeit bei Zimmer-Temperatur dicht durchsetzt von Leucin- und Tyrosinkrystallen war.

Anschließend folgen die Versuchstabellen:

17. Versuch.

13 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von Verdauungslösung. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Verdauungs-Lösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im cmm	6,440,000	5,320,000					
Zahl der Leukocyten im cmm	16,600	3,600					
Gesamtstickstoff . .	940,0	850,0	788,6	772,8	168,0	240,0	441,9
N der eiweißfreien Filtrate	14,0	20,0	88,0	99,2	53,3	82,6	
N der Gerbsäure-Niederschläge . .	6,4	6,0	32,0	32,0	8,0	10,6	82,8
N der Phosphorwolframs.Niederschläge	minimal	3,2	11,2	12,8	minimal	8,0	169,2
N der Phosphorwolframs. Filtrate . .	7,6	12,4	49,6	52,8	42,6	58,6	201,6
N der Niederschläge mit Sublimat- und Natriumcarbonat .	12,4	10,4	36,8	38,4	56,0	72,0	268,4

Der Versuch zeigt bei der Injektion von fast 500 ccm einer tryptisch verdauten Fleischbrühe bei einem 13 kg schweren Hunde eine Zunahme von 6 ccm in 100 ccm Blut.

Bei der auf den ersten Blick auffallenden Geringfügigkeit dieser Ziffer ist zu berücksichtigen, daß sie einer viel geringeren Injektionsmenge und einem großen Tiere entspricht.

Wir erhalten durch entsprechende Multiplikation und Reduktion des Gewichtes auf 7 kg ca. 18 bis 20 ccm Rest-N-Vermehrung auf 100 ccm Blut, was allerdings noch immer wesentlich geringer ist als die bei der Injektion von Pepton erhaltene Zunahme. Die Erklärung liegt darin, daß wir in unserer Injektionsflüssigkeit ja besonders reichlich weit abgebaute Produkte injiziert haben; und diese, wie wir an früheren Versuchen wissen, ein größeres Verteilungsgebiet haben, also viel leichter und rascher aus dem Blute entschwinden können. Diese Verhältnisse finden in unserem Falle noch eine Steigerung dadurch, daß im Organismus ein Abbau stattgefunden hat; während die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen in der Injektionsflüssigkeit nur 50 % darstellen, sind sie in den im Blutserum vermehrt aufgetretenen Substanzen auf ca. 80 % gestiegen.

Für die Annahme eines Überganges in koagulable Substanz im Blut ist kein Anhaltspunkt vorhanden; der Getamt-N geht entsprechend der Verdünnung der Erythrocyten herab, und es findet sich im Serum auch keine Vermehrung der Globuline. Nach diesen Befunden müßten die aus dem Blut verschwundenen nicht koagulablen N-Substanzen sich in den Organen vorfinden.

Der Nachweis dieser Substanzvermehrung ist hier dadurch erschwert, daß nur die Hälfte der bei den Peptonversuchen verwendeten N-Menge injiziert werden konnte und daß die Zahlen des Eiweißgehaltes des Blutes, der Leber und der Muskeln ebenso wie die Zahlen der nicht koagulablen Substanzen das Bild einer während der Injektion stattgehabten Konzentration zeigen. (Folge des hohen NaCl-Gehaltes der Injektionsflüssigkeit.)

Immerhin geben bei der Muskelanalyse die Fraktionsbestimmungen des Rest-N eine auffallende Vermehrung in ihrer letzten Rubrik, wenn man sie mit einer hierzu geeigneten Ana-

lyse des Versuchs 12 vergleicht. Bei ungefähr gleichem Eiweißgehalt findet sich bei Versuch 17 eine etwa viermal so große Vermehrung der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen.

18. Versuch.

12 kg Hungerhund. Abbindung von Magen und Darm. Injektion von Verdauungslösung. Versuchdauer ca. 17 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Verdauungs-Lösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter . . .	7400000	7040000					
Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter . . .	13400	3800					
Gesamtstickstoff .	950,0	975,0	600,7	738,0	191,0	206,0	572,4
N der eiweißfreien Filtrate	10,0	23,6	253,0	320,0	82,2	61,7	
N der Gerbsäure-Niederschläge .	3,4	5,2	68,3	70,5	19,4	11,4	136,8
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	1,0	3,2	46,5	55,2	17,1	17,1	138,6
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	4,6	15,0	139,6	165,8	50,3	32,0	295,6
N der Niederschläge mit Sublimat u. Natriumbarbon.	6,4	14,4	161,4	189,0	61,7	45,7	280

Der gleiche Versuch beim Hungerhund mit Abbindung des Darmes zeigt demnach eine mäßige Erhöhung des Wertes der Rest-N-Vermehrung im Blute, die in derselben Weise, wie im früheren Versuche berechnet, 39 bis 42 ccm für 100 ccm Blut ergibt.

Es zeigt sich also auch hier, daß das Abbinden des Darmes es mit sich bringt, daß ein weitaus größerer Teil der injizierten Substanz in unkoagulierbarer Form im Blute verharrt. Die Vermehrung fällt um so mehr in die Wagschale, als diese Injektionsflüssigkeit noch stärkeren Abbau zeigt, als die in Versuch 17 verwendete. In dem Verhältnis der Fraktionen zu-

einander zeigen sich keine wesentlichen Differenzen gegenüber dem Versuche mit wegsamem Darm.

Die beiden Versuche hatten uns jedenfalls gezeigt, daß das Verteilungsgebiet des weit abgebauten Injektionsmaterials ein vom weniger abgebauten so verschiedenes ist, daß ein Vergleich mit den Peptonversuchen, bzw. der im Blut verbleibenden Anteile nicht gut möglich ist. Immerhin können wir betreffs der Verwendung dieser weit abgebauten Substanzen nur konstatieren, daß hier keine Anhaltspunkte für Koagulierbarwerden vorhanden sind und daß relativ reichliche Mengen nicht koagulablen Materials in den Organen aufzufinden sind.

Da demnach eine Vermehrung der Versuche in dieser Form keine weitere Aufklärung hätte bringen können, haben wir uns in weiteren Versuchen mit der Frage des Einflusses der Darmwandresorption befaßt.

Der zugrunde liegende Plan war, die gleiche Verdauungsflüssigkeit einerseits durch den Darm, andererseits intravenös einzuverleiben, und die Veränderung im Blut und den Organen zu vergleichen.

24. Versuch.

7 kg gefütterter Hund. Injektion von Fleischverdauungslösung in das Darmlumen. Versuchsdauer 30 Minuten.

	Blut		Leber		Verdauungslösung $5^0/_0$ Salzgehalt
	vor	nach	vor	nach	
Gewicht der Organe . . .	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	ca. 30—40 ccm
Gesamtstickstoff	990,0	955,0	840,0	758,1	ca. 350,0 ccm
N der eiweißfreien Filtrate	10,5	12,6	62,7	67,3	—

27. Versuch.

11,6 kg Hungerhund. Injektion einer Peptonverdauungslösung in das Darmlumen. Versuchsdauer 60 Minuten.

	Blut	
	vor	nach
Menge des Blutes	100 ccm	100 ccm
Gesamtstickstoff	735,0	720,0
N des eiweißfreien Filtrates	10,0	13,2
N des oxalsauren Harnstoffes	0,6	4,4

Wir haben in den beiden ersten Versuchen, wie die Tabellen zeigen, nur eine Zunahme nicht koagulabler Substanz im Werte von 2 bis 3 ccm $^n/_4$-Lauge auf 100 ccm Blut erzielt,

28. Versuch.

12 kg Hungerhund. Injektion einer Verdauungslösung in das Darmlumen. Versuchsdauer 60 Minuten.

	Blut		Muskel		Darminhalt nach dem Koagulieren	Verdauungslösung
	vor	nach	vor	nach		
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	250 ccm	100 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter . . .	7136000	6232000				
Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter . . .	11200	15600				
Gesamtstickstoff .	990,0	925,0	187,2	216,0	662,5	980,0
N des eiweißfreien Filtrates	8,4	14,0	65,6	78,4		
N der Gerbsäure-Niederschläge .	3,4	3,4	4,8	5,6	200,0	440,0
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	0,6	1,0	17,6	23,2	337,5	372,0
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	3,4	10,0	43,2	50,4	187,5	112,0
N des oxalsauren Harnstoffes . .	0,8	3,2	32,0	38,4		

Erst beim dritten Versuch wurde eine Vermehrung der nicht koagulablen Substanz im Werte von 6 ccm $^n/_4$-Lauge pro 110 ccm Blut nachgewiesen, und in diesem Falle wurde auch durch Bestimmung des im Darm verbliebenen, innerhalb der Versuchszeit nicht resorbierten Anteiles genau ermittelt, wieviel aus dem Darm zur Resorption gelangt sei.

Es wurden 980 ccm injiziert, zur Resorption gelangten 318,5 ccm.

Diese geringe Resorption bot zunächst ein prinzipielles Hindernis, um die Ergebnisse dieses Versuches mit der intravenösen Injektion vergleichen zu können.

Es erübrigte uns daher, auch in diesem Falle nur eine Vergleichsrechnung aufzustellen.

Nehmen wir wie in den Vergleichsversuchen eine dreimal so große resorbierte Menge, also 1000 ccm an, so ergeben sich 18 ccm Rest-N-Vermehrung im Blute; das Gewicht des Hundes auf 8 kg reduziert, ergeben sich 24 ccm auf 100 ccm Blut, ein Ergebnis, welches dem bei intravenöser Injektion einer ähnlichen tryptischen Lösung und nicht ausgeschaltetem Darm ziemlich nahesteht. Betrachten wir die Versuche mit Portal-Venen-Injektion, so ergibt sich bei Versuch 23 eine Zunahme von

23. Versuch.

9 kg gefütterter Hund. Abbindung des Magens und des Darmes. Injektion von Fleischverdauungslösung in die Vena portae. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Verdauungslösung 5% Salzgehalt
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	90 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter . . .	5668000	3560000					
Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter . . .	8800	1600					
Gesamtstickstoff .	705,0	475,0	672,0	756,0	191,7	219,4	967,5
N der eiweißfreien Filtrate	10,0	41,2	80,0	122,6	73,1	91,4	
N der Gerbsäure-Niederschläge .	3,0	6,6	24,0	24,6	8,0	8,0	340,2
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	minimal	9,8	10,0	10,0	13,7	17,1	229,5
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	7,8	24,8	50,0	82,6	57,0	67,4	399,6

31 ccm, bei Versuch 25 (Darm nicht ausgeschaltet) von 23 ccm. Es zeigen sich also unter Berücksichtigung gleicher Resorptionsgrößen keine auffallenden Differenzen.

Ein ähnliches Resultat zeigt auch Versuch 29, bei dem nach Abbindung von Leber, Niere und Darm Verdauungs-

25. Versuch.

7,5 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von Peptonverdauungslösung in die Vena portae. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Verdauungslösung
	vor	nach 2	vor	nach	vor	nach	
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	80 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikzentimeter . . .	7360000						
Zahl der Leukocyten im Kubikzentimeter . . .	13000						
Gesamtstickstoff .	920,0	630,0	698,6	800,0	173,3	226,6	952,0
N der eiweißfreien Filtrate	10,4	33,2	157,3	192,0	56,0	80,0	
N der Gerbsäure-Niederschläge .	3,6	3,6	34,0	41,3	4,0	8,0	155,2
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	0,8	6,2	32,6	40,0	14,6	22,6	224,0
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	6,0	23,0	90,0	110,0	38,7	50,0	
N des oxalsauren Harnstoffes . .	2,8	5,2	30,6	33,3	24,0	37,3	

flüssigkeit in die Schenkelvene injiziert wurde und nur eine Vermehrung von 26 ccm pro 100 ccm Blut erzielt wurde.

Es wurden nun noch zwei Versuche durchgeführt, bei denen ganz gleiche Mengen von stickstoffhaltigem Material, das eine Mal durch den Darm, das andere Mal intravenös zur Einführung kamen.

Es wurde so vorgegangen, daß von dem durch Verdauung von Muskelfleisch gewonnenen stickstoffhaltigen Verdauungsmaterial zuerst ca. 100 ccm Flüssigkeit mit einem N-Gehalt entsprechend 1000 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge einem Hund in den Darm injiziert wurden und nach dem Versuch aus dem Darminhalt ermittelt wurde, wieviel zur Resorption gelangt sei. Die gleiche Menge wurde nun einem zweiten Hunde in die Vena femoralis injiziert.

29. Versuch.

11 kg gefütterter Hund. Darm und Magen abgebunden. Injektion von Verdauungslösung in die Schenkelvene. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Verdauungslösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	60 ccm
Zahl der Erythrocyten im Kubikzentimeter . .	7 824 000	6 500 000					
Zahl der Leukocyten im Kubikzentimeter . .	15 000	3 600					
Gesamtstickstoff .	980,0		732,0	980,0	146,6	240,0	588,0
N der eiweißfreien Filtrate . . .	14,4	27,2	78,6	89,3	51,5	72,8	
N der Gerbsäure-Niederschläge .	2,6	7,2	24,6	26,6	2,6	3,5	
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge .	0,6	4,8	12,6	16,6	10,6	21,3	
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	11,4	15	41,4	46,1	37,0	47,1	
N des Harnstoffes (mit Phosphorsäure zersetzt)	7,6	9,0	10,0	16,6	13,3	19,5	

Die untenstehenden Tabellen, Versuch 30 und 31, geben im großen und ganzen eine Bestätigung der bei den früheren Versuchen beobachteten Werte.

Die Zunahme des nicht koagulablen stickstoffhaltigen Materiales beträgt bei der Resorption durch den Darm ca. 4 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge und bei der Injektion der gleichen Menge Verdauungsflüssigkeit in die Vena femoralis, unter Berücksichtigung der bei dem Versuche eingetretenen Konzentration des Blutes 6 ccm pro 100 ccm Blut.

Ist also auch die letztere Ziffer größer, so kann man doch gewiß nicht von einer prinzipiellen Verschiedenheit sprechen.

Die Leberanalyse beim Darmversuch zeigt eine Zunahme der Pseudoglobulinfraktion um 50 ccm, während Euglobulin- und Albuminfraktion ziemlich gleiche Werte aufweisen, daneben

30. Versuch.

14 kg Hungerhund. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung in den Darm (davon resorbiert 45 ccm). Versuchsdauer 1 Stunde.

	Blut		Leber		Muskel		Darminhalt	Verdauungslösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach		
Gewicht d. Organe	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	200 ccm	100 ccm
Zahl der Erythrocyten im cmm	7160000	6180000						
Gesamtstickstoff	810,0	735,0	583,0	748,8	173,6	179,2	307,2	682,0
N der eiweißfreien Filtrate	12,4	16,0	109,6	144,0	67,2	75,2		
N der Gerbsäure-Niederschläge	8,0	10,8	44,8	51,2	12,8	9,6	105,0	375,0
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge	0,8	1,2	22,4	32,0	20,8	17,6	103,1	175,0
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate	4,0	4,0	43,2	61,6	35,2	49,6	101,0	133,0

zeigt sowohl die Analyse der Muskeln als der Leber, daß während der Versuchszeit ein Abbau des Materiales stattgefunden habe.

Die Leberuntersuchung bei intravenöser Injektion läßt keine Pseudoglobulinvermehrung konstatieren, sondern im Gegenteil eine Verminderung des Pseudoglobulins gegenüber dem Gleichbleiben des Albumins.

Die Untersuchung der Darmwand weist bei dem Versuche mit intravenöser Einverleibung eine ganz auffallende Zunahme an stickstoffhaltigem Material auf, welches fast auf das Doppelte des vor dem Versuche vorhandenen Wertes steigt, wobei die Vermehrung auf fast alle Fraktionen der Eiweißsubstanzen in gleicher Weise verteilt ist, ja auch die unter dem Namen Zellreste subsumierten in Wasser und Kochsalzlösung unlöslichen stickstoffhaltigen Substanzen betrifft.

Es ist dadurch unklar, ob es sich hier nur um eine Anhäufung histologischer Elemente — etwa der Leukocyten — infolge des pathologischen Eingriffes handelt, oder ob unter dieser Form auch eine Anhäufung des injizierten Materiales stattgefunden hat.

31. Versuch.

13,5 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 45 ccm Verdauungslösung in die Vena femoralis. Versuchsdauer 20 Minuten.

	Blut		Leber		Muskel		Darmwand		Darminhalt		Verdauungslösung
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
Gewichte der Organe . . .	100 ccm	100 ccm	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 ccm	100 ccm	100 cm³
Zahl der Erythrocyten im cmm . .	6440000	7400000									
Gesamtstickstoff	1000,0	1135,0	672,0	697,6	205,3	210,6	126,0	185,0			682,0
N der eiweißfreien Filtrate	6,8	13,6	76,8	81,6	74,7	80,0	41,1	37,0	10,8	8,4	
N der Gerbsäure-Niederschläge . . .	2,4	4,0									
N der Phosphorwolframsäure-Niederschläge . . .		1,2									
N der Phosphorwolframsäure-Filtrate . .	4,8	8,8									

Jedenfalls ist der Befund ungemein interessant, wenn man ihn in Verbindung bringt mit den Resultaten Borchardts und unserer früher angeführten Versuche, welche einen Transport des Nährmateriales aus dem Organismus in die Darmwand annehmen ließen.

Das Vorhandensein dieser Tatsachen würde auch erklärlich machen, daß die verschiedene Vornahme der Injektion in unseren beiden letzten Versuchen keine wesentlichen Differenzen im Blute aufgewiesen hat, da ja das in die Vene injizierte Material auf einem Umwege zum Darm gelangt und daher denselben Veränderungen wie das natürlich resorbierte unterliegen konnte.

Will man den wirklichen Einfluß der Darmwandpassage erkennen, so darf man die Darmresorptionsversuche nur mit

den Injektionsversuchen bei abgebundenem Darm vergleichen. Ein solcher Vergleich ergibt bei stark abgebautem Material deutliche, bei weniger abgebautem (Pepton) ganz exzessive Unterschiede.

Anhang.

Die Zusammenstellung der Untersuchung der Fraktionen der Leber-Eiweißsubstanzen hat kein eindeutiges Bild ergeben, gleichviel ob man die erhaltenen Werte nach dem Fütterungszustande oder nach dem Gesichtspunkte des offenen oder geschlossenen Darmes sichtet.

Gleichwohl wäre es unrichtig, aus dieser mangelnden Einheitlichkeit den Schluß zu ziehen, daß die erhaltenen Werte gleichgültiger Natur waren und entweder die Methodik oder die tatsächlichen Verhältnisse einen Vergleich vor und nach der Injektion überhaupt nicht zulassen.

Wir haben eine ganze Reihe von Untersuchungen der Leber vor und nach der Injektion, welche nahezu gleichlautende Ergebnisse bieten, andererseits Kontrolluntersuchungen, welche ebenfalls zeigen, daß die Methodik an und für sich vollkommen verläßliche Werte liefert. Wir müssen daraus den Schluß ziehen, daß ein Abweichen in der Zusammensetzung dieser Fraktionen immerhin ein Abweichen von der Norm darstelle. Es sei hier vor allem darauf hingewiesen, daß bei jenem Versuch der am meisten normalen Verhältnisse nachahmt, wo Verdauungsflüssigkeit durch den Darm resorbiert wurde (31), ein ganz imposantes Anwachsen der Pseudoglobulinfraktion zu erkennen ist, welches um so auffallender ist, als Euglobulin und Albuminfraktion ziemlich gleiche Werte liefern; da hier Doppelbestimmungen vorliegen, dürfen wir diese Werte als unbedingt verläßlich ansehen.

Andererseits haben wir sowohl in der Gruppe der gefütterten als der Hungertiere sowohl bei wegsamem als bei abgebundenem Darm je einen Fall, bei dem auch die Zunahme des Pseudoglobulins besonders stark hervortritt.

Die Tatsache, daß dies nur in wenigen Fällen zu finden ist, möchten wir darauf beziehen, daß die Umwandlung der injizierten in koagulable Substanz, wie auch aus andern Momenten hervorgeht, im Organismus über einen Weg führt, der mehrere Organe berührt, aber nicht immer der gleiche ist.

nicht immer in gleicher Weise und mit gleicher Geschwindigkeit zurückgelegt wird. Es wird Aufgabe der weiteren Untersuchungen sein müssen, klar zu stellen, von welchen physiologischen und pathologischen Umständen es abhängt, daß in den einzelnen Fällen diese Deponierung in Leber, Darmwand usw. früher oder später eintritt.

Muskelpressaft-Untersuchungen.

Die Zahlen des Gesamtstickstoffes der Muskeln und des Extraktivstickstoffes und dessen Fraktionen geben, wenn sie auch nicht zu allgemein gültigen Schlüssen berechtigt, ebenfalls ein lehrreiches Bild. Vor allem zeigt eine Reihe von Analysen (Versuch 12, 14, 18, 19), daß sich entweder nahezu gleichlautende Werte vor und nach dem Experiment finden oder doch Werte, welche in ihrem gleichmäßigen Ansteigen und Absinken klar erkennen lassen, daß es sich um Konzentrations-Differenzen handelt.

Wir wollen aus diesen Analysen nur erschließen, daß die angewandten Methoden vollkommen verläßliche Resultate lieferten.

Hier sei besonders Versuch 21 hervorgehoben, bei dem sich ein vollständiges Gleichbleiben der Gesamtstickstoff- und Extraktivstickstoff-Bestandteile konstatieren läßt. Es ist dies der Versuch mit Gelatine, bei dem es verständlich erscheint, daß keine Vermehrung der Abbauprodukte zu bemerken ist.

Um so eher dürfen wir dann die Zahlen des Versuches 23, der bei fast gleichbleibendem Gesamtstickstoff ein relativ starkes Ansteigen der Extraktivstickstoff-Bestandteile zeigt, näher ins Auge fassen. Die einzelnen Zahlen der Fraktionen zeigen, daß bei der Gerbsäurerubrik sowohl wie bei den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen keine Zunahme zu bemerken ist, wohl aber bei den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen. Da der Gesamtstickstoff nicht geändert ist, handelt es sich hier wohl nicht um Konzentrationsdifferenzen, sondern es ist die gefundene Vermehrung mit dem injizierten Material in Zusammenhang zu bringen.

Mit Rücksicht darauf muß es auffallend erscheinen, daß hier nur die letzte Rubrik Vermehrung zeigt, während in der Injektionsflüssigkeit die beiden ersten Rubriken etwas mehr als die Hälfte des Gesamtstickstoffes betragen. Man muß hierbei

zwei Möglichkeiten für das Entstehen dieser Veränderung offen lassen, entweder daß die durch Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen in Substanzen der letzteren Fraktion abgebaut wurden oder daß sie zu koagulablen Substanzen aufgebaut wurden. Es ist uns natürlich nicht möglich, einen diesbezüglichen Schluß zu ziehen, doch mag der Umstand als Grundlage weiterer Versuche hervorgehoben sein.

Beim Vergleich der Peptonversuche mit den Versuchen, wo weiter abgebaute Lösungen injiziert wurden, ergibt sich ein prägnanter Unterschied in der Menge der Rest-N-Vermehrung; dieselbe ist auch dort, wo N-gleiche Mengen zur Injektion gelangten, bei den Peptonversuchen weitaus geringer.

Sera.

Für die Frage der Überführung der injizierten Substanzen in koagulable Bestandteile war die Untersuchung des Serums auf seine Fraktionen höchst bedeutungsvoll. Wir haben auch hier keineswegs in jedem Falle einen unzweideutigen Beweis für einen solchen Übergang gefunden.

Immerhin haben aber einzelne Fälle Verhältnisse geboten, welche den Schluß ermöglichen, daß während der Versuchszeit eine Vermehrung des koagulablen Stickstoffes stattgefunden hat, welche nicht auf Konzentrationsdifferenzen bezogen werden kann. Es hat sich in vier von diesen Versuchen, und zwar Versuch 6, 13, 15 und 25 gezeigt, daß speziell der Pseudoglobulingehalt zugenommen hat und im ersten Falle auch das Euglobulin, während die anderen Fraktionen derselben Sera eine Abnahme zeigten, welch letztere durch Konzentrationsdifferenzen zu erklären ist.

Leukocyten.

Bei allen unseren Versuchen hat sich als Wirkung der Peptoninjektion in bezug auf die Leukocytenzahl des Blutes die bekannte Erscheinung der Leukocytenverminderung gezeigt.

Es geht die Menge von ca. 10000 auf 3000, in einem Falle von 15000 auf 2000 herab.

Zum Unterschiede zeigt sich in den Fällen, bei denen wir in den Darm injiziert haben, eine wohl der Verdauungs-Leukocytose zu vergleichende Zunahme von 11000 auf 15600.

Zusammenstellung der Eiweißfraktionen in den Leberpressaten (für 100 g Leber).

Versuchs-Nr.	Gesamt-Stickstoff		N der Zellreste		N des Euglobulins		N des Pseudoglobulins		N des Albumins		Gegenstand des Versuches
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
7	696,0	680,0	233,6	201,6	48,0	41,6	38,4	140,8	204,8	105,6	8 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 856 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
8	589,3	602,1	197,1	185,1	41,1	42,8	99,4	94,3	123,4	128,5	7,5 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 800 ccm $^1/_4$ N. L. Exitus nach 5 Minuten.
14 Doppelbest.	473,1	726,8	243,4	325,6	34,2	57,1	68,5	65,1	89,1	144,0	8 kg Hungerhund, Magen und Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 1072 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 15 Minuten.
	473,1	726,8	229,8	308,5	35,4	61,7	68,5	75,4	96,0	157,7	
16	832,0	1099,6	293,8	343,2	52,3	75,6	122,1	189,0	162,9	177,4	12 kg gefütterter Hund, Magen und Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 916 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
17	789,6	773,6	246,4	229,6	64,4	64,4	162,4	165,2	201,6	154,0	13 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 441,9 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
18	600,7	738,1	136,1	110,7	26,7	50,4	115,8	77,6	166,7	165,4	12 kg Hungerhund, Darm und Magen abgebunden. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 572,4 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 17 Minuten.
30 Doppelbest.	583,2	748,8	177,3	223,2	21,6	21,6	60,1	102,6	122,4	117,9	14 kg Hungerhund, Leber, Nieren und Magen abgebunden. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 375,0 ccm $^1/_4$ N. L. in den Darm. Versuchsdauer 60 Minuten.
	583,2	748,8	—	—	21,6	21,6	57,6	108,0	117,9	121,5	

Zusammenstellung der Untersuchungen der Muskelpressate (für 100 g Muskel).

Versuchs-Nr.	Gesamt-Stickstoff		N des eiweißfreien Filtrates		N des Gerbsäure-Niederschlages		N des Phosphorwolframsäure-Niederschlages		N des Phosphorwolframsäure-Filtrates		Gegenstand des Versuches
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
7	105,0	150,0	20,0	23,0							8 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 856 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
8	194,0	208,0	44,5	45,7							7,5 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 800 ccm 1/4 N. L. Exitus nach 5 Min.
12	186,0	231,0	36,4	43,5	2,2	4,4	9,8	13,2	24,0	28,0	14 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 872 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
14	204,0	268,0	76,0	104,0	7,2	11,2	22,4	33,6	48,8	59,2	8 kg Hungerhund, Magen und Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 1072 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 15 Min.
15	176,0	256,0	55,1	76,4	7,0	8,0	8,0	23,1	40,9	46,2	12 kg gefütterter Hund, Darm abgebunden, Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 988 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
16	128,0	228,1	54,5	76,4	12,4	14,1	7,0	7,0	35,5	54,8	12 kg gefütterter Hund, Magen und Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 916 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
17	168,0	240,0	53,3	82,6	7,9	10,5	minimal	7,9	42,6	58,6	13 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 441,9 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
20	160,0	200,0	60,0	72,0							8,5 kg Hungerhund, Magen, Darm und Nieren abgebunden. Injektion von 80 ccm 8,4% Harnstofflösg. = 1180 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
23	192,0	219,4	73,1	91,0	8,0	8,0	13,7	17,0	52,0	67,4	9 kg gefütterter Hund. Abbindung des Magens u. des Darmes. Injektion v. 90 ccm Verdauungslösung = 967,5 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
25	173,0	226,6	56,0	80,0	4,0	8,0	14,6	22,6	38,7	50,5	7,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von Pepton-Verdauungslösung = 952,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
28	187,2	216,0	65,6	78,4	4,8	5,6	17,6	23,2	43,2	50,4	12 kg Hungerhund. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 320,0 ccm 1/4 N. L. in das Darmlumen. Versuchsdauer 60 Minuten.
29	146,0	240,0	51,5	72,8	2,6	3,5	10,6	21,3	37,0	47,1	11 kg gefütterter Hund, Darm und Magen abgebunden. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung 588,0 ccm 1/4 N. L. in die Schenkelvene. Versuchsdauer 20 Minuten.
30	173,6	179,2	67,2	75,2	12,8	9,6	20,8	17,6	35,2	49,6	14 kg Hungerhund, Leber, Nieren und Magen abgebunden. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 375,2 ccm 1/4 N. L. in den Darm. Versuchsdauer 60 Minuten.
31	205,3	210,6	74,7	80,0							13,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 45 ccm Verdauungslösung = 375,2 ccm 1/4 N. L. in die Vena femor. Versuchsdauer 20 Minuten.

Zusammenstellung der Werte der Rest-N-Fraktionen in den Leberpressaten (für 100 g Leber).

Versuchs-Nr.	Gesamt-Stickstoff		N des eiweißfreien Filtrates		N des Gerbsäure-Niederschlages		N des Phosphorwolframsäure-Niederschlages		N des Phosphorwolframsäure-Filtrates		Gegenstand des Versuches
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
5	235,2	280,0	35,8	51,2							8,5 kg Hungerhund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 100 ccm 30% Peptonlösung = 784 ccm $^1/_4$ N. L. Exitus nach 5 Minuten.
6	490,0	326,2	116,0	75,0	52,0	27,5	18,0	10,0	48,0	36,0	7,3 kg Hungerhund, Darm abgebund., Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 30% Peptonlösg = 864 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
7	696,0	680,0	73,6	72,0							8 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 856 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Min.
8	589,3	602,1	94,8	97,1							7,5 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 800 ccm $^1/_4$ N. L. Exitus nach 5 Minuten.
12	720,0	672,0	50,4	51,2	17,6	18,8	11,2	9,6	20,4	24,0	14 kg gefütterter Hund. Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 872 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Min.
14	470,3	726,8	106,3	104,0	21,6	30,7	17,9	15,9	78,6	59,2	8 kg Hungerhund, Magen u. Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 1072 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 15 Min.
15	760,0	920,0	100,0	132,0	36,0	48,0	10,0	16,0	54,0	68,0	12 kg gefütterter Hund, Darm abgebunden, Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösung = 988 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
16	830,0	1099,6	104,6	141,0	43,2	53,8	18,7	12,9	52,3	74,1	12 kg gefütterter Hund, Magen und Darm abgebunden. Injektion von 80 ccm 30% Peptonlösg. = 916 ccm $^1/_4$ N.L. Versuchsdauer 20 Min.
17	789,6	772,8	88,0	99,2	32,0	32,0	11,2	12,8	49,6	52,8	13 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 441,9 ccm $^1/_4$ N. L. Versuchsdauer 20 Min.

18	607,0	738,0	253,0	320,0	68,3	70,5	46,5	55,2	139,6	165,8	12 kg Hungerhund, Darm u. Magen ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 572,4 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 17 Min.
19	688,8	683,3	62,0	71,0							8 kg Hungerhund, Darm und Magen ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 15 % Hippursäure = 315,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
20	765,3	772,0	69,3	90,6							8,5 kg Hungerhund, Darm und Magen ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 84 % Harnstofflösung = 1180,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
22	827,5	883,0	298,6	318,0	72,4	88,8	64,0	83,1	168,0	140,4	8,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 20% Leimlösung = 756,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
23	672,0	756,0	80,0	122,7	24,0	24,6	10,0	10,0	50,0	82,6	9 kg gefütterter Hund, Darm und Magen ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm Verdauungslösung = 967,5 ccm 1/4 N. L. in die Vena portae. Versuchsdauer 20 Minuten.
24	840,0	758,1	62,7	67,3							7 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von Fleischverdauungslösung = 350,0 ccm 1/4 N. L. in das Darmlumen. Versuchsdauer 30 Minuten.
25	698,6	800,0	157,3	192,0	34,0	41,3	32,6	40,0	90,0	110,0	7,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von Pepton-Verdauungslösung = 952,0 ccm 1/4 N. L. in die Vena portae. Versuchsdauer 20 Minuten.
29	732,0	930,0	78,6	89,3	24,6	26,6	12,6	16,6	41,4	46,1	11 kg gefütterter Hund, Darm und Magen abgebunden. Injektion von Verdauungslösung = 588,0 ccm 1/4 N. L. in die Schenkelvene. Versuchsdauer 20 Minuten.
30	583,2	748,8	109,6	144,0	44,8	51,2	22,4	32,0	43,2	61,6	14 kg Hungerhund, Magen abgebunden. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 375,0 ccm 1/4 N. L. in den Darm. Versuchsdauer 60 Minuten.
31	672,0	697,6	76,8	81,6							13,5 kg Hungerhund. Injektion von 45 ccm Verdauungslösung = 378,0 ccm 1/4 N. L. in die Vena femor. Versuchsdauer 20 Minuten.

Zusammenstellung der Serum-Eiweiß-Fraktionen (für 100 ccm Serum).

Versuchs-Nr.	Gesamt-Stickstoff		N des Euglobulins		N des Pseudoglobulins		N des Albumins		Gegenstand des Versuches
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	
6	245,0 245,0	230,0 230,0	19,0 17,0	56,0 56,0	17,0 13,0	34,0 32,0	158,0 163,0	95,0 95,0	7,3 kg Hungerhund, Darm abgebunden, Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 30 % Peptonlösung = 864,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
7	290,0	250,0	56,0	34,0	84,0	45,0	112,0	65,0	8 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion v. 80 ccm 30 % Peptonlösg. = 856 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Min.
12	335,0	290,0	48,0	37,0	59,0	44,0	190,0	124,0	14 kg gefütterter Hund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 872,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
13	310,0	235,0	31,0	20,0	47,0	58,0	182,0	140,0	7 kg gefütterter Hund, Darm ausgeschaltet. Zuerst Injektion von 90 ccm 0,6 % NaCl-Lösung, dann Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 920,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer je 20 Minuten.
15	290,0	245,0	21,0	17,0	27,0	32,0	206,0	122,0	12 kg gefütterter Hund, Darm abgebunden, Magen nicht ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 988,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
16	370,0	310,0	81,5	51,5	83,0	43,0	167,0	136,5	12 kg gefütterter Hund, Magen und Darm ausgeschaltet. Injektion von 80 ccm 30 % Peptonlösung = 916,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
22	295,0	270,0	52,0	25,0	48,0	23,0	160,0	76,0	8,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 90 ccm 20 % Leimlösung = 756,0 ccm 1/4 N. L. Versuchsdauer 20 Minuten.
28	315,0	285,0	54,0	45,0	58,0	64,0	149,0	112,0	12 kg Hungerhund. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 320,0 ccm 1/4 N. L. in das Darmlumen. Versuchsdauer 20 Min.
30	344,0 344,0	310,0 310,0	73,0 75,0	63,0 60,0	101,0 101,0	96,0 98,0	140,0 137,0	119,0 117,0	14 kg Hungerhund, Magen abgebunden. Injektion von 100 ccm Verdauungslösung = 375,0 ccm 1/4 N. L. in den Darm. Versuchsdauer 60 Minuten.
31	250,0	270,0	55,0	42,0	40,0	40,0	152,0	136,0	13,5 kg Hungerhund, Darm nicht ausgeschaltet. Injektion von 45 ccm Verdauungslösung = 375,0 ccm 1/4 N. L. in die Vena femor. Versuchsdauer 20 Minuten.

Schlußsätze.

Bei intravenöser Injektion von Wittepeptonlösungen in den Organismus verbleibt, sofern ein Austritt durch die Nieren unterbunden ist, nach 5 Minuten nur mehr ca. die Hälfte der injizierten Substanzen im Blute.

Das Schicksal des im Blut verbleibenden Peptons hängt wesentlich davon ab, ob die Darmblutgefäße passiert werden oder nicht. Bei Verschluß derselben verbleibt der allergrößte Teil der injizierten nicht koagulablen Substanz im Blute mit geringfügigen Abbauveränderungen.

Bei wegsamem Darm tritt eine Verminderung der in das Blut injizierten Substanz bis ca. 20% der injizierten Menge ein, wobei ein Teil zum Abbau gelangt, ein anderer Teil in koagulierbare Form überzugehen scheint, und in dieser im Blut oder den Organen nachzuweisen ist.

Es ist höchst wahrscheinlich, daß diese Veränderungen bei der Passage der Darmwand eingeleitet werden.

Bei Injektion weiter abgebauten Materiales ist der Unterschied zwischen wegsamem und abgebundenem Darm weniger markant. Die Menge des in den Organen nachweisbaren Rest-N ist größer als bei den Injektionen mit Peptonlösungen. Ob dabei auch ein Übergang in koagulable Substanz stattfindet, bedarf weiterer Untersuchungen.

Über Seromucoid.

Von

H. W. Bywaters.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität London.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1908.)

Einleitung.

Die folgende experimentelle Arbeit bildet den ersten Teil einer Untersuchung über die Art und Weise, in welcher die normalen Verdauungsprodukte vom Darmkanal aus in die Gewebe gelangen, woselbst ihre Nutzbarmachung erfolgt. In der Annahme, daß der Abbau der Kohlenhydrate in den Eingeweiden bis zur Stufe des Traubenzuckers fortschreitet und daß die Eiweißkörper zu ihren Spaltungsprodukten, den Aminosäuren, hydrolisiert werden, wird meist behauptet, daß diese beiden Klassen von einfachen Substanzen als solche in das zirkulierende Blut resorbiert werden, von wo aus sie später nach Bedarf von jedem Gewebe aufgenommen werden. Freilich sind nur Spuren dieser Aminosäuren und stets nur kleine Mengen Dextrose im normalen Blute aufgefunden worden; aber man versucht, die Schwierigkeit dieser Erklärung durch die Annahme zu überwinden, daß das Volumen des durch die Eingeweide zirkulierenden Blutes so groß ist, daß die resorbierten Verdauungsprodukte durch die Zellelemente in demselben Maße entfernt werden, wie sie aus dem Verdauungskanal in das Blut eindringen; so braucht nur eine ganz kleine Menge dieser Produkte im Blute vorhanden zu sein und kann doch der Transport einer sehr beträchtlichen Materialmenge möglich sein.

Nun ist die Menge von Eiweiß im Blute viel größer als die der Aminosäuren, und die Kohlenhydratquantität, welche an Protein gebunden ist, ist, wie wir aus Pavys [1]) Untersuchungen

[1]) Über den Kohlehydratstoffwechsel. Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1907.

wissen nicht geringer, sondern gewöhnlich größer als die Menge des freien Blutzuckers. Wenn demnach genügend freie Aminosäuren und Traubenzucker vorhanden sind, um den nötigen Transport an Verdauungsprodukten zu decken, so darf man um so mehr das Blutprotein als einen „Träger" sowohl für die stickstoffhaltigen als auch für die kohlenhydratartigen Bestandteile der Nahrung betrachten. Langstein[1]) hat vermutet, daß Serumglobulin einen Kohlehydratträger darstelle, und im Hinblick hierauf festgestellt, daß die Menge von Zucker, welche aus verschiedenen Produkten erhältlich ist, sehr bedeutend schwankt. Im Jahre 1897 hatte bereits Zanetti[2]) über die Entdeckung eines anderen Glucoproteids im normalen Blute berichtet, welches er wegen der Ähnlichkeit mit Ovomucoid „Seromucoid" nannte. Eine spätere Mitteilung Zanettis,[3]) welche seine vorhergehenden Befunde bestätigte, wurde im Jahre 1903 veröffentlicht; es scheint aber außer einer kurzen Bezugnahme darauf durch Langstein kaum irgendwelche Notiz von Zanettis Arbeit genommen worden zu sein. Da Mucoide von 3—34°/₀ Kohlehydrat im Molekül enthalten können, erschien es wünschenswert, ein Quantum Seromucoid aus dem Blut zu isolieren und festzustellen, welche Gründe vorliegen, ihm die Funktion eines Trägers für Kohlehydrat aus dem Darmkanal in die Gewebe hinein zuzuschreiben.

Darstellung von Seromucoid.

Die Menge von Seromucoid aus 3 bis 4 Litern Blut, die Zanetti als Aussgangsmaterial zu nehmen empfiehlt, wurde zu klein befunden, um daran die charakteristischen Eigenschaften und Reaktionen der Substanz bestimmen zu können. Quantitäten von 50 bis 60 Liter Blut wurden daher auf einmal in Arbeit genommen und das Blut durch Zusatz von 0,1°/₀ Natriumcitrat oder Oxalat unter Beigabe von 0,1°/₀ Formalin als antiseptisches Mittel am Gerinnen verhindert. Es wurde mit Citronen- oder Oxalsäure enthaltendem Blute gearbeitet im Hinblick auf einen später mitzuteilenden Befund über die

[1]) Monatsh. f. Chem. 24, 465, 1903.

[2]) Ann. di Chim. e di Farmac. 12, 1, 1897.

[3]) Gaz. chim. Ital. 33, 160, 1903.

Bedeutung der Lymphocyten für die Bildung und den Transport des Seromucoids. Weder Plasma noch Serum enthält Lymphocyten, und es ist bekannt, daß die Defibrinierung mit der Entfernung eines großen Teiles weißer Blutkörperchen einhergeht, so daß Plasma, Serum und defibriniertes Blut vielleicht weniger Seromucoid als Gesamtblut liefern würden.

Zuerst wurde das Blut von einer Anzahl Pferde verwendet, später jedoch infolge Mangels brauchbarer Pferde Ochsenblut benutzt. Gewöhnlich vergingen weniger als 24 Stunden von der Zeit der Entziehung des Tierblutes bis zu seiner in folgender Weise vorgenommenen Verarbeitung:

Das Blut wurde in einen Behälter von ca. 250 Liter Inhalt gebracht und mit 2 bis 3 Volumen Wasser verdünnt. Der Grad der Alkalität wurde in einem aliquoten Teile der Flüssigkeit festgestellt und so viel von sehr verdünnter Schwefelsäure unter Umrühren zu der Gesamtmenge hinzugefügt, daß die Reaktion auf Lackmus schwach sauer war. Dann wurde überhitzter Wasserdampf in die Flüssigkeit vermittels eines Bleirohres gelassen, welches ringförmig auf dem Boden des Behälters angebracht war und in Zwischenräumen Löcher trug, um dem Dampfe aus zahlreichen Öffnungen den Austritt zu ermöglichen. Es war gewöhnlich nötig, 20 Minuten lang Dampf einzuleiten, bis der Siedepunkt erreicht war, und während dieser Zeit wurde das Blut stark umgerührt.

Es sei betont, daß die soeben beschriebene Methode der einzige Weg ist, um Proteinlösungen von 150 bis 200 Liter in verhältnismäßig kurzer Zeit zum Sieden zu bringen, ohne daß natürlich irgendeine Spur von Verbrennung oder Verkohlung eintritt. Überdies wird das geronnene Protein in Form von sehr feinen Partikeln gefällt, welche vermutlich die Fähigkeit der Gerinnsel, lösliche Stoffe zu absorbieren, auf ein Minimum einschränken.

Nach der Abkühlung muß die breiige Masse filtriert werden, um das geronnene Protein vom Seromucoid, welches in Lösung bleibt, zu trennen. Die Filtration wurde durch stärkefreies Leinen unter Zuhilfenahme einer besonders konstruierten Filterpresse vorgenommen. Beim Drehen der Schraube wurde ein entsprechend befestigtes Blech auf ein Quantum Brei gepreßt, welcher in Leinwand gehüllt war und in einem flachen,

darunter befindlichen Trog zurückblieb. Über 1 Liter Brei konnte auf einmal ausgepreßt werden, und der gewonnene Kuchen des Koagulums war fast trocken, zerkrümelte zwischen den Fingern zu feinem Pulver und machte so eine weitere Extraktion überflüssig.

Das Filtrat war fast farblos und wurde sodann auf ein kleines Volumen eingeengt. Für diesen Zweck wurde wieder die heizende Kraft des hochgespannten Dampfes benutzt. Ein bleierner Trog, 120 cm im Quadrat und 14 cm tief, bildete das Verdampfungsgefäß. Auf dem Boden des Troges war ringförmig ein Bleirohr angebracht, welches mit einem Dampfrohre verbunden war. Nachdem das Rohr den Boden des Troges durchquert hatte, strömte der Dampf in einen aufrechten Teil des Rohres, welches wie ein Rückfußkühler wirkte, und konnte dann als Dampf entweichen oder in kondensierter Form durch eine Öffnung von beträchtlicher Größe abfließen. Wenn der Trog mit dem kalten Extrakt gefüllt wurde, trat der erste Dampf aus dem runden und vertikalen Rohr in kondensierter Form aus. Durch Regulierung der Dampfmenge und der Größe des Abflußrohres konnte das Wasser in dem runden Rohre auf dem Siedepunkte erhalten werden, während am Ende des Rohres nur ein kleiner Strahl lauwarmen Wassers abfloß. Unter diesen Umständen wurde die höchste Ausnutzung erzielt, und die verdampfte Menge betrug 20 Liter in der Stunde.

Nachdem der wässerige Extrakt auf ungefähr 10 Liter gebracht worden war, ließ man diese durch ein am Trogboden angebrachtes Zapfrohr ab und unterwarf sie der Dialyse. Der angewendete Dialysator war nach Art der Apparate gebaut, wie sie gewöhnlich in Zuckerraffinerien Verwendung finden. Er bestand aus einem Holzkasten mit Abteilungen; zwischen jeder war ein Stück Pergamentpapier angebracht, so daß das Innere des Kastens dadurch in 6 Abschnitte geteilt wurde. Das Pergament wurde mittels Kautschuk gehalten, die in jedes Abteil eingelassen waren, und der Apparat wurde durch sechs Schraubenklammern zusammengehalten, welche nach Bedarf angezogen werden konnten. Die zu dialysierende Flüssigkeit wurde nach Zusatz von $^1/_2$% 20%iger alkoholischer Thymollösung in die umschichtigen Abteile gebracht, und ein Wasserstrahl floß ununterbrochen durch die Zwischenabteilungen, die durch Einsetzen

eines Hebers miteinander kommunizierten. Etwa 6 Liter Flüssigkeit wurden auf einmal dialysiert; der ganze Inhalt des Apparates betrug ca. 12 Liter.

Nach 3- bis 4-tägiger Dialyse waren die Salze und der freie Zucker vollständig entfernt. Die Flüssigkeit wurde darauf durch Papier filtriert, das Filtrat nach schwacher Ansäuerung mit Essigsäure auf ein kleines Volumen verdampft und mit 3 Volumen Alkohol behandelt. Der Niederschlag wurde gesammelt, getrocknet und bildete das rohe Seromucoid.

Reinigung des Rohproduktes.

Das rohe Produkt ist gewöhnlich durch Farbstoffe, welche vom Blute herrühren, braun gefärbt. Es löst sich sehr leicht in kochendem Wasser auf, und die Lösung kann durch Filtrieren von einigen unlöslichen Beimengungen befreit werden. Die weitere Reinigung der Seromucoidlösungen ist auf mancherlei Weise versucht worden — durch wiederholtes Umfällen mittels Alkohol; durch Zusatz von dialysiertem, krystallisiertem Ovalbumin und nachfolgender Hitzekoagulation sowie Filtration vom dadurch auskoagulierten Eiweiß; durch Behandlung mit Tierkohle und Wasserstoffsuperoxyd; durch Fällung mittels Bleiacetat und nachheriger Zersetzung der so gebildeten Bleiverbindung durch Schwefelwasserstoff. Obwohl verschiedene dieser Mittel eine gewisse Menge von Farbstoff entfernten, wurde doch kein befriedigendes Produkt erzielt. Ein rationelles Mittel zur Reinigung wurde in der Behandlung mit Schwefeldioxyd gefunden; die Methode ist folgende:

Das rohe Material wird zuerst zu einem feinen Pulver zerrieben und in einem Mörser mit kochendem Wasser behandelt. Sodann wird alles in ein emailliertes Gefäß gebracht, die Flüssigkeit, welche suspendierte Partikel enthält, zum Sieden erhitzt und auf ein Filter gegossen. Das Filtrat ist klar, aber die Filtration geht langsam vor sich, sie dauert ca. 24 Stunden. Der Niederschlag wird von dem Filter in das emaillierte Gefäß zurückgetan, wieder mit Wasser aufgekocht und der Auszug wie vorher abfiltriert. Diese Behandlung wird dreimal wiederholt, worauf der filtrierte Auszug nur eine leichte Trübung auf Zusatz von Alkohol ergibt. Der dritte und vierte Extrakt wur-

den auf dem Wasserbade eingeengt und die vier Extrakte dann vereinigt; sie stellen eine dunkelfarbige Flüssigkeit dar, welche nun mit Schwefeldioxyd gesättigt wird. Die Färbung verschwindet dadurch fast völlig und ergibt eine nur schwach getrübte gelbliche Lösung. Vier Volumnia Alkohol werden sodann hinzugegossen und die Mischung 24 Stunden stehen gelassen.

Der Niederschlag, welcher sich während dieser Zeit auf dem Boden des Gefäßes abgesetzt hat, wird auf einem Leinenfilter gesammelt, wieder in Wasser aufgelöst und abermals durch Alkohol gefällt. Der gewaschene Niederschlag wird dann in einer kleinen Menge heißen Wassers gelöst und gegen destilliertes Wasser 3 oder 4 Tage lang in einer tierischen Membran dialysiert, bis in einer Probe durch einen Tropfen Bariumchloridlösung keine Trübung mehr hervorgerufen wird. Nach nochmaligem Filtrieren wird ein Teil der Lösung mit einem Tropfen Essigsäure und ein anderer mit einem Tropfen Ammoniak geprüft. Die Erzeugung eines Niederschlages zeigt in jedem Falle Verunreinigung mit Nucleoproteiden an, welche je nach Erfordernis durch Säure oder Alkali entfernt werden müssen, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Das Seromucoid im Filtrate dieses Niederschlages muß wieder durch Alkohol gefällt, abermals in Wasser gelöst und die Prüfung der Lösung mit Säure und Alkali wiederholt werden. Infolge der Löslichkeit des Nucleoproteids im geringsten Überschusse jedes dieser Reagenzien ist es schwer, die letzte Spur dieser Verunreinigung zu entfernen; dessenungeachtet wurden durch Wiederholung dieser Behandlung Präparate erhalten, welche keine Trübung mit Alkali und, wenn überhaupt, eine kaum wahrnehmbare mit Säure ergaben. Nach Befreiung von diesen Beimengungen wird das Seromucoid durch Zusatz von überschüssigem Alkohol gefällt, gesammelt, mit Alkohol und Äther gewaschen, und zuerst bei 60° und dann bei 100 bis 110° getrocknet. Die Ausbeute betrug 5 bis 15 g reines Produkt, entsprechend 0,1 bis 0,25 g Seromucoid pro Liter Blut.

Es sei hinzugefügt, daß wenn eine exzeptionelle Reinheit gewünscht wurde, eine zweite oder dritte Behandlung mit Schwefeldioxyd stattfand, bevor die Mucoidlösung der Dialyse unterworfen wurde. Das Schwefeldioxyd, welches übrigens die Farbstoffe durch Reduktion entfernt, erhöht die Löslich-

keit des Seromucoids in Alkohol in überraschendem Umfange. Während das Mucoid aus der wässerigen Lösung durch 2 Volumina Alkohol gefällt wird, muß das doppelte Quantum hinzugefügt werden, wenn die wässerige Lösung vorher mit Schwefeldioxyd gesättigt worden war. Diese erhöhte Löslichkeit befähigt einen Teil des Seromucoids, in den alkoholischen, während des Reinigungsprozesses erhaltenen Filtraten zurückzubleiben; diese können auf dem Wasserbad konzentriert und das Seromucoid ev. durch Zusatz von viel Alkohol niedergeschlagen werden.

Die Möglichkeit, daß Schwefeldioxyd chemisch auf Seromucoid einwirke, ist natürlich in Betracht gezogen worden. Versuche mit dem nahe verwandten Ovomucoid ergaben, daß keine Veränderung des durch Hydrolyse abspaltbaren Kohlenhydrates und keine Abweichung in den physikalischen Eigenschaften durch die Behandlung mit schwefliger Säure zustande kommen. Seine Löslichkeit in Wasser wurde nicht verringert, und ein Zusatz von 2 Volumina Alkohol genügte, um es wieder fast gänzlich aus der Lösung zu fällen. Da nun die elementare Zusammensetzung zweier in verschiedener Weise mit schwefliger Säure behandelter Proben gut miteinander und mit den Angaben übereinstimmt, welche andere Forscher für Mucoide gemacht haben, darf man folgern, daß die Behandlung keine merkliche Veränderung in der Konstitution des Seromucoids zur Folge hat.

Eigenschaften des Seromucoids.

Die Substanz wird durch das vorher angegebene Reinigungsverfahren in Form eines blaßgelben Pulvers erhalten; es löst sich vollständig in kochendem Wasser zu einer gelben, durchsichtigen Flüssigkeit auf. Bei Verdampfen der wässerigen Lösung scheidet sich das Mucoid in gallertartigen Häutchen aus, welche nur mit Schwierigkeit wieder in kochendem Wasser in Lösung gehen. In dieser Hinsicht wie in seinen meisten Eigenschaften ähnelt es dem Ovomucoid, von dem es sich jedoch durch zwei Reaktionen unterscheidet.

Beim Zusammenbringen einer Ovomucoidlösung mit Glyoxylsäure nach den Angaben von Hopkins und Cole entsteht

in Übereinstimmung mit dem Befunde von Willanen[1]) kein violettfarbener Ring auf Zusatz von Schwefelsäure, und nur eine matte Purpurfarbe ist nach Mischung der Flüssigkeit erkennbar. Mit Seromucoid dagegen fällt die Reaktion höchst intensiv aus und kann wahrgenommen werden, wenn nur Spuren von Mucoid zugegen sind. Daß der Unterschied in dem Verhalten nicht auf einer Verunreinigung der Substanz beruht, wird durch die Tatsache wahrscheinlich, daß Seromucoid eine andere charakteristische Probe nicht gibt, die den meisten Mucoiden, auch dem Ovomucoid, zukommt. Es handelt sich um die Schwefelbleiprobe, die derart ausgeführt wird, daß das Protein wenige Minuten mit konzentrierter Kalilauge gekocht wird. Der im Molekül vorhandene Schwefel wird in den meisten Fällen in Sulfid verwandelt, welches durch Schwarzfärbung auf Bleiacetatzusatz nachweisbar ist. Seromucoid gibt bei dieser Behandlung kaum Andeutung eines Schwefelgehalts, und es muß offenbar der Schwefel in einer anderen Bindungsform zugegen sein.

In diesem Zusammenhange möge auf die merkwürdigerweise recht unsichern Angaben über den Schwefelgehalt des Seromucoids hingewiesen werden. Anstatt der 2,2 bis 2,4 $^0/_0$, welche die meisten Glieder dieser Gruppe von Proteinen aufweisen, wurden verschiedentlich Werte von 1,7 bis 1,8 $^0/_0$ gefunden. Eine Probe von Ovomucoid, welche genau in derselben Weise analysiert wurde, ergab den normalen Schwefelwert von 2,30 $^0/_0$.

0,3698 g Ovomucoid, enthaltend 1,12 $^0/_0$ Asche, ergaben 0,0611 g $BaSO_4$.

Da Zanetti[2]) 2,22 $^0/_0$ Schwefel im Ovomucoid und Langstein[3]) 2,23 $^0/_0$ gefunden hat, war es erwiesen, daß die analytische Methode nicht fehlerhaft war. Langstein führte in einer früheren Arbeit[4]) an, daß einige Proben von seiner sogenannten Blutalbumose kaum eine Spur von Schwefelreaktion ergaben; es erscheint also, daß wir in dieser Reaktion ein Mittel besitzen, das Seromucoid von den meisten anderen Gliedern dieser Gruppe zu unterscheiden.

---

[1]) Diese Zeitschr. 1, 109, 1906.

[2]) Ann. di chim. e di farmacologia 26, 529, 1897.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 510, 1903.

[4]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 373, 1903.

Wenn man eine Seromucoid- oder Ovomucoidlösung mit einem Tropfen Bariumchlorid und wenigen Tropfen konzentrierter Salzsäure kocht, tritt Dunkelfärbung ein, jedoch ohne die geringste Bariumsulfatfällung. Zanetti gab an, daß Ovomucoid bei dieser Behandlung einen Teil seines Schwefels in Form von Sulfat abspaltete, wodurch eine Trübung in der Flüssigkeit erfolgte. Weder Langstein noch ich vermochte diese Angabe zu bestätigen.

Die übrigen allgemeinen Eiweißreaktionen — die Xanthoprotein-, Biuret- und Millonsche Probe — werden alle von Seromucoid gegeben, ebenso jene Reaktionen, die auf dem Vorhandensein einer Kohlenhydratgruppe beruhen, nämlich: die Molischsche α-Naphtolprobe und die Thymolreaktion sowie Bials modifizierte Orcinprobe.

Die wässerige Seromucoidlösung wird nicht auf Zusatz von verdünnter Essigsäure getrübt, auch ergibt sie keine Spur von einer Glykogenreaktion mit Jodlösung. Eine Hinzugabe von gewöhnlichen Mineralsäuren hat keine sichtbare Wirkung; Phosphorwolframsäure sowie Tannin fällen jedoch, ebenso verhält sich Bleiessig, jedoch erst nach Zusatz von Ammoniak. Fehlingsche Lösung wird weder in der Kälte noch beim Kochen reduziert. Ein Überschuß von Ammoniumsulfat fällt Seromucoid aus seinen Lösungen, und der Niederschlag klebt beim Erhitzen zu einer gummiartigen Masse zusammen, welche sich an den Wänden des Gefäßes ansetzt. Gießt man die Ammoniumsulfatlösung ab und ersetzt sie durch kochendes Wasser, so löst sich das Seromucoid sofort auf. Wenn eine gesättigte Zinksulfatlösung zu einer Seromucoidlösung hinzugetan wird, entsteht kein Niederschlag, bis ca. $^1/_8$ Volumen hinzugefügt worden ist. Sättigung mit Zinksulfat scheidet das Seromucoid vollständig aus der Lösung ab.

Seromucoid ist ein wahres Kolloid, seine Darstellungsmethode beruht in Wirklichkeit auf seinen kolloidalen Eigenschaften. Selbst fortgesetzte Dialyse führt nicht zur vollständigen Entfernung der Mineralstoffe, welche das Protein begleiten. Die Menge derselben, welche nach 3 oder 4tägiger Dialyse gegen destilliertes Wasser zurückbleibt, ist dieselbe, welche man gewöhnlich auch in (sogenannten) reinen Proben anderer Eiweißkörper findet.

Analysen des Seromucoids.

Zwei sorgfältig gereinigte Proben Seromucoid aus Ochsenblut wurden zu den Analysen verwendet. Diese erste Probe (A) war zweimal mit Schwefeldioxyd behandelt und nach wiederholtem Ausfällen durch Alkohol gegen destilliertes Wasser dialysiert worden, bis keine Trübung durch Bariumchlorid mehr eintrat. Dann wurde sie mit 2 Volumina absoluten Alkohol gefällt, auf einem Leinenfilter gut mit Alkohol und dann mit Äther gewaschen und schließlich bei 100—110° getrocknet. Die andere Probe (B) erfuhr eine besondere Behandlung durch Schwefeldioxyd, bevor sie durch Alkohol gefällt wurde.

Die folgenden Einzelheiten seien hinsichtlich der angewendeten Analysenmethoden hervorgehoben.

Kohlenstoff und Wasserstoff: Die Verbrennung wurde mit chromsaurem Blei in einem Sauerstoffstrome ausgeführt. Eine Silberdrahtnetzrolle war eingeschaltet, um etwa gebildete Stickstoffoxyde zu zersetzen, und die üblichen Vorsichtsmaßregeln bezüglich Erhitzung und Schwefelgehalt sorgsam beobachtet. Keine Schwierigkeit machte die vollständige Oxydation des Kohlenstoffes. Durch Wiegen des Porzellanschiffchens vor und nach der Verbrennung wurde der Aschengehalt der Substanz festgestellt.

Stickstoff: Stickstoff wurde in Probe A nach Dumas, in Probe B nach Kjeldahl bestimmt.

Schwefel: Der Gehalt an Schwefel wurde durch Schmelzen mit Kalihydrat plus Kaliumnitrat in einem Nickeltiegel über einer Spirituslampe festgestellt. Die Schwefelsäuremenge wurde dann in der geschmolzenen Masse auf dem üblichen Wege ermittelt. Die Resultate sind, auf aschefreie Substanz berechnet, folgende:

Probe A.

0,1864 g gaben 0,0033 g Asche, 0,1129 g H_2O und 0,3217 g CO_2.
0,1645 g „ 16,8 ccm N bei 17° und 740 mm.
0,2012 g „ 0,0245 g $BaSO_4$.

Probe B.

0,1908 g gaben 0,0021 g Asche, 0,1160 g H_2O und 0,3274 g CO_2.
0,2391 g „ NH_3, entsprechend 1,93 ccm $\frac{n}{10}$ H_2SO_4.
0,1486 g „ 0,0194 g $BaSO_4$.

	A	B
C . . .	47,92	47,32
H . . .	6,85	6,84
N . . .	11,75	11,43
S . . .	1,70	1,81
Asche . .	1,77	1,10

Die folgende Tabelle zeigt die elementare Zusammensetzung verschiedener Mucoide und anderer Proteine zum Vergleiche:

	Seromucoid[1]) (Zanetti)	Ovomucoid[2])	Osseo-mucoid[3])	Sehnen-mucin[4])	Sub-maxillaris-mucin[5])	Sputum-mucin[6])	Ovalbumin[7])	Serum-albumin[8])
C	47,6	48,8	47,1	48,0	48,8	48,2	52,5	53,1
H	7,1	6,9	6,7	6,7	6,8	6,9	7,2	7,1
N	12,9	12,4	12,0	12,5	12,3	10,7	15,3	15,9
S	2,4	2,2	2,4	2,2	0,8	1,4	1,3	1,9

Trotz der großen Verschiedenheiten in der elementaren Zusammensetzung der Glucoproteine sind ein oder zwei zahlenmäßige Verhältnisse dieser Gruppe eigen, welche ihre Glieder von den anderen Proteinen unterscheidet. Das Vorhandensein einer Kohlenhydratgruppe verursacht ein Sinken des Prozentsatzes von C, H und N im Protein. Je größer der Gehalt an Kohlehydrat, desto kleiner der Prozentgehalt von C, H und N. Der größte Teil der Glucoproteine enthält weniger als 50 % C, 7 % H und 13 % N; eine Ausnahme bilden die Glucoproteine der Schnecke und einzelne wenige pathologischen Ursprungs. Auf den hohen Schwefelgehalt der meisten dieser Substanzen ist bereits hingewiesen.

---

1) Zanetti, Jahresber. u. Fortschritte d. Tier-Chem. 27, 31, 1897.
2) Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 510, 1903.
3) Hawk und Gies, Amer. Journ. Physiol. 5, 387, 1901.
4) Cutter und Gies, Amer. Journ. Physiol. 6, 155, 1902.
5) Hammersten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 12, 163, 1887.
6) Müller, Zeitschr. f. Biol. 42, 468, 1901.
7) Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 100, 1901.
8) Michel, Malys Jahresber. 25, 11, 1895.

Bis die Reinheit der von den verschiedenen Forschern analysierten Produkte sichergestellt ist, kann man kaum die Daten über die elementare Zusammensetzung der aus so ungleichen Materialien und auf so verschiedenen Wegen bereiteten Substanzen prüfen. Es genügt hier, zu sagen, daß die Eigenschaften der reinsten Proben von Seromucoid für Mucoide charakteristisch und tatsächlich solche sind, wie sie erfahrungsgemäß den Gliedern keiner anderen Klasse von Proteinen eigen sind.

Kohlenhydratgruppe des Seromucoids.

Die sicherste Probe auf Gegenwart eines Mucoids hat man im Nachweise des Vorhandenseins und der Natur der Kohlenhydratgruppe, Wo eine Verunreinigung mit Glykogen ausgeschlossen ist, kann die Menge des durch Säurehydrolyse abspaltenden Kohlenhydrates als direktes Merkmal für die Reinheit der Substanz betrachtet werden. Die reinste Probe von Seromucoid, welche aus den kleinen, zuerst verwendeten Blutquantitäten stammte, ergab 22,5% Kohlenhydrat bei der Hydrolyse. Bei den später erhaltenen, verhältnismäßig großen Quantitäten rohen Seromucoids wurde die Reinigung fortgesetzt, bis das analysierte Produkt 24,3% Kohlenhydrat enthielt.

0,3140 g ergaben 0,0763 g Glucose.

Eine andere charakteristische Eigentümlichkeit muß im Zusammenhange mit der Kohlenhydratgruppe erwähnt werden, nämlich die Leichtigkeit, mit welcher das Kohlenhydrat durch Kalilauge abgespalten und zersetzt wird. Der Zucker, welcher in den meisten Proteinen enthalten ist, erscheint unter den Produkten der Hydrolyse durch Säuren in der leicht erkennbaren Form der Glucose oder anderer Monosaccharide. Wenn jedoch Lauge als hydrolysierendes Mittel verwendet wird, so wird ein nicht reduzierendes Polysaccharid abgespalten, welches durch Zusatz einer großen Menge von Alkohol aus der Lösung gefällt werden kann. Dieser Niederschlag geht durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren in die Monosaccharidform über, ähnlich wie bei der direkten Säurehydrolyse des

Proteins. Eine Betrachtung dieser Angaben führt zu dem Schlusse, daß die Kohlenhydratgruppe in der Mehrzahl der Proteine nicht aus einer Anzahl einfacher Glucosemoleküle besteht, sondern aus einem zusammengesetzten Radikal, das durch die Vereinigung solcher Moleküle mittels eines Kondensationsprozesses gebildet ist.

Bei den Mucoiden kann, worauf Pavy neuerdings hingewiesen hat[1]), eine verschiedenartige Form der Zusammensetzung beobachtet werden. Bei der Hydrolyse mit Säuren geht ein großer Teil des Moleküls in die gewöhnliche Monosaccharidform über. Die Wirkung, welche durch Alkalien hervorgebracht wird, ist weitgehend von der Stärke des angewendeten Agens abhängig. Bis zu einer Stärke von 2°/₀ scheint Kalihydrat kaum eine Zersetzung von Kohlenhydrat zu bewirken, und folglich ergibt die Hydrolyse des durch Alkohol ausgefällten Materials so viel Monosaccharid, wie durch Spaltung des ursprünglichen Mucoids durch Säure erzielt wird. Wenn nun anstatt einer 2°/₀igen eine 10°/₀ige Lösung von Kalihydrat verwendet wird, so ist die Spaltung von einer teilweisen Zerstörung des in Freiheit gesetzten Kohlenhydrats begleitet, so daß bedeutend niedrigere Daten für den Kohlenhydratgehalt des Mucoids erhalten werden. Offenbar kommt in den Mucoiden das Kohlenhydrat nicht völlig als komplexes Polysaccharid, sondern zum Teil in einer wahrscheinlich monomolekularen Form vor, welche eine schnelle Zersetzung durch kochendes Alkali erleidet. Das Studium des Verhaltens eines Proteins gegen kochende 10°/₀ige Kalilauge einerseits und 5°/₀ige Salzsäure andererseits kann vielleicht ein wenig Licht auf die Bindung der Kohlenhydratgruppe im Molekül werfen.

Wendet man diese Methode der Untersuchung auf Seromucoid an, so wird offenbar das Kohlenhydrat in Mucoidbindung erhalten, wie für Ovo-, Osseo- und Sehnenmucoid bewiesen worden ist. Die folgende Tabelle zeigt den Gehalt des Moleküls an Kohlenhydrat, ausgedrückt als Glucose, wie sich bei den verschiedenen oben angegebenen Methoden der Hydrolyse ergibt:

---

[1]) Über den Kohlehydratstoffwechsel 1907, 52.

Material	Gehalt an Kohlenhydrat, berechnet als Glucose, nach der Hydrolyse mit 10 % KOH:	mit 5 % HCl:
Seromucoidpräparat I	9,8	11,6 10,9
„ II	12,0	22,5
„ III	10,4	11,1
„ IV	15,1	20,8
Ovomucoid[1]	12,3	21,7
Osseomucoid[1]	4,6	10,8
Sehnenmucin[1]	3,3	11,6
Ovalbumin[1]	2,62	2,50
Serumglobulin[1]	2,81	2,81

Es muß betont werden, daß bei jeder Probe von Mucoid höhere Daten bei saurer als bei alkalischer Hydrolyse erhalten wurden, wohingegen ein solcher Unterschied nicht beobachtet wird, wenn andere Typen von Proteinen in derselben Weise geprüft werden. Präparat IV war aus Probe III durch Beseitigung des beigemengten Nucleoproteids erhalten, und wie zu erwarten war, ergab die reinere Probe einen deutlicheren Unterschied bei Anwendung der beiden Methoden der Hydrolyse.

Obwohl das reine Material nicht auf diese Weise geprüft wurde, kann in Anbetracht obiger Resultate behauptet werden, daß Seromucoid die typische Mucoidstruktur besitzt.

Natur des aus Seromucoid abspaltbaren Zuckers.

Die Isolierung des Zuckers, welcher unter den Spaltprodukten der Proteine auftritt, gelingt bis jetzt nur mit großen Schwierigkeiten. Zanetti erwähnt in einer zweiten kurzen Arbeit über Seromucoid[2]), daß er aus den benzoylierten Spaltungsprodukten eine Substanz abtrennen konnte, welche bei 198,5° schmolz und sehr gut für Tetrabenzoylglucosamin stimmende Analysenzahlen ergab. In ähnlicher Weise vorgehend, gelangte ich nicht zur Tetra-, sondern zur Pentabenzoylverbindung des Glucosamins.

[1]) Pavy, Über den Kohlehydratstoffwechsel 1907, 44.

[2]) Gaz. chim. Ital. 33, 160, 1903.

Ungefähr $7^1/_2$ g gereinigtes Seromucoid wurde mit 100 ccm 5%iger Salzsäure 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die zurückbleibende dunkelfarbige Flüssigkeit wurde mit einem Überschuß von 20%iger Phosphorwolframsäure behandelt und dann wieder zum Sieden gebracht, wobei sich der Niederschlag zusammenballte. Nach der Abkühlung in Eis wurde die Flüssigkeit filtriert und das Filtrat fast mit starker Natronlauge neutralisiert. Bei den ersten Versuchen wurde der Überschuß von Phosphorwolframsäure durch Bariumhydrat entfernt, aber es ergab sich, daß Phosphorwolframsäure die Benzoylierung nicht stört und daß ihre Entfernung einen bedeutenden Verlust an Zucker zur Folge hat. Es ist daher ratsam, gleich die Benzoylierung durch Zusatz von 20 ccm 50%igem Ätznatron vorzunehmen und sukzessive mit Quantitäten von je 2 ccm frisch destilliertem Benzoylchlorid zu schütteln, bis der Geruch des Reagens bestehen bleibt. Die Temperatur muß durch zeitweilige Kühlung mit fließendem Wasser niedrig gehalten und Alkali in Mengen von 5 ccm zugegeben werden, damit die Reaktion alkalisch bleibt. Die ausgefallenen Benzoylverbindungen werden abfiltriert, das Filtrat wieder mit Benzoylchlorid behandelt und diese Prozedur wiederholt, bis die Flüssigkeit nicht mehr Fehlingsche Lösung reduziert.

Um die Zuckerbenzoate von anderen vorhandenen Benzoylverbindungen zu trennen, wird der Niederschlag in Äther gelöst und die ätherische Lösung nach dem Trocknen über Calciumchlorid und Filtration bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet. Die so erhaltene harzige Masse wird bei 60—70° im Luftbade getrocknet und dann mit Äther angerieben. Nur ein kleiner Teil wird hierbei vom Äther aufgenommen, den Rest führt man durch Lösen in heißem absoluten Alkohol und nachherige Abkühlung in krystallisierte Form über. Beim Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol erhält man lange, seidenartige Nadeln, welche scharf bei 213° schmelzen. Die Substanz ist offenbar mit der Benzoylverbindung identisch, welche Seemann[1]) aus Ovomucoid gewann und für die er den Schmelzpunkt 211—212° angibt.

---

[1]) Inaug.-Dissert. Marburg 1898.

Die gefundenen Analysenzahlen stehen mit den für Pentabenzoylglucosamin erforderlichen Daten im Einklange.

0,1068 g ergaben 0,2792 g CO_2 und 0,0441 g H_2O.
0,1271 g „ 2,4 ccm N bei 18° und 764 mm.

	Berechnet für: $C_6H_8NO_5(CO.C_6H_5)_5$	Gefunden:
C	70,39	71,29
H	4,72	4,59
N	2,00	2,19

Die Menge des Seromucoids im Blute.

Nach Feststellung der Tatsache, daß Mucoid im Blute enthalten ist, war zunächst notwendig, eine Methode zur quantitativen Ermittlung seiner Menge unter normalen und unter abnormen Verhältnissen auszuarbeiten. Zwei Eigenschaften des Seromucoids wiesen von selbst auf eine Grundlage, auf die eine analytische Bestimmung gegründet werden konnte, nämlich seine Löslichkeit in kochendem Wasser und sein großer Gehalt an Kohlenhydrat. Die erste ermöglicht seine Trennung von den übrigen Blutproteinen, und die zweite gestattet seine Bestimmung ohne Isolierung in tatsächlich reinem Zustande. Nach zahlreichen Versuchen wurde eine Methode gefunden, welche kurz in den Proceedings der Physiological Society[1]) im Jahre 1906 beschrieben worden ist. Da sich bei wiederholter Anwendung die Einführung einiger Modifikationen bewährt hat, dürfte die Wiedergabe der folgenden Einzelheiten der jetzigen Ausführungsform wohl am Platze sein. Ein gemessenes Volumen mit citronensaurem Natrium versetzten Blutes (100 bis 500 ccm s.) wird mit 2—3 Volumen Wasser verdünnt, mit verdünnter Essigsäure gerade angesäuert und das durch Erhitzen bis zum Siedepunkt auscoagulierte Eiweiß mittels Filtration durch ein stärkefreies Leinentuch entfernt. Das Koagulum wird so weit wie möglich durch Auspressen von der anhaftenden Mutterlauge befreit, dann in eine Reibschale gebracht und wieder mit kochendem Wasser behandelt, um Spuren von Mucoid zu gewinnen, welche vorher durch das geronnene Ei-

[1]) Journ. of Physiol. 35, iii, 1906/7.

weiß mitgerissen sind. Die vereinigten Filtrate wurden auf ein kleines Volumen (50 ccm) eingeengt und mit 5 Volumen Alkohol behandelt. Das gefällte Mucoid setzt sich nun an den Boden des Gefäßes ab, und nachdem die darüber stehende klare Flüssigkeit abgegossen ist, wird es auf einem großen Goochtiegel gesammelt. Der Niederschlag wird mit 75%igem Alkohol gewaschen, dann in kochendem Wasser gelöst und ohne erneute Filtration wieder durch Alkohol gefällt. Nachdem das gefällte Mucoid wie zuvor auf einem Goochtiegel abfiltriert ist, wird es wieder in Wasser gelöst, die Lösung zu einem bekannten Volumen aufgefüllt und durch ein trockenes Filter gegossen.

Das Filtrat besitzt noch geringe reduzierende Eigenschaften, welche zeigen, daß trotz des Waschprozesses Spuren von Blutzucker von dem gefällten Mucoid zurückgehalten werden. Zur genauen Bestimmung des anhaftenden Blutzuckers wird ein angemessener Teil des Filtrates mit so viel konzentrierter Salzsäure versetzt, daß 10% in der Flüssigkeit zugegen sind, und dann ein Überschuß von 20%iger Phosphorwolframsäure zur Fällung des Seromucoids zugegeben. Nach ganz leichter Erwärmung, durch welche der Niederschlag einen körnigen Charakter annimmt, wird die Phosphorwolframsäurefällung durch einen Goochtiegel filtriert und mit etwas 10%iger Salzsäure ausgewaschen. Natronhydrat (nicht Carbonat) wird dann zum Filtrat gefügt, bis die Säure zur Hälfte abgestumpft ist, und der Blutzucker durch $1^1/_2$stündiges Kochen am Rückflußkühler in die Monosaccharidform übergeführt. Nach Neutralisation der abgekühlten Flüssigkeit wird der Zuckergehalt mittels Pavys ammoniakalischer Kupferlösung bestimmt.

Nachdem die Menge freien Zuckers so bestimmt worden ist, wird der übrige Teil des Filtrates sorgfältig gemessen und nach Hinzugabe von konzentrierter Salzsäure bis zu einem Gehalte von 5% $1^1/_2$ Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Das im Seromucoid vorhandene Kohlenhydrat wird dadurch in Freiheit gesetzt und zusammen mit dem freien Blutzucker in der Monosaccharidform erhalten. Der Zuckermenge in der Lösung wird dann, nach Entfernung des Eiweißes, mittels Phosphorwolframsäure wie vorher nach Pavy festgestellt. Die Differenz zwischen dem Gesamtzucker und dem anhaftenden Blutzucker zeigt die Kohlenhydratmenge an, die aus dem Seromucoid

des Blutes abgespalten ist und braucht, weil Mucoid ein Viertel seines Gewichtes an Kohlenhydrat liefert, nur mit 4 multipliziert zu werden, um die wirkliche Menge von Seromucoid im Blute zu erhalten.

Bei der Erörterung der möglicherweise dem Verfahren anhaftenden Irrtümer muß zugegeben werden, daß etwa vorhandenes freies Glykogen in der Zuckermenge mitbestimmt werden würde, die als aus Seromucoid stammend angesehen wird. Es ist jedoch von vielen Forschern gezeigt worden, daß die Menge des Glykogens im Blute außerordentlich klein ist, und es scheint meist fest an Eiweiß gebunden zu sein, in welchem Falle es von dem geronnenen Protein zurückgehalten werden würde. Die konzentrierten Filtrate des auskoagulierten Eiweißes sind systematisch auf Glykogen untersucht worden; aber mit Ausnahme von zwei Extrakten aus Pferdeblut ist nicht die leiseste Spur einer Reaktion mit Jod beobachtet worden.

Was die Möglichkeit von Versuchsfehlern anlangt, so sei darauf hingewiesen, daß sie durch Ausführung von Doppelbestimmungen bestimmt werden können. Da der Endwert durch die Differenz zweier anderer Bestimmungen gewonnen ist, so verursacht ein Fehler in diesem eine große Ungenauigkeit des ersteren. So kommt es, daß die Ergebnisse der doppelten Analysen sich voneinander bis um 16% unterscheiden. Woher die so großen Unterschiede datieren, ist nicht untersucht worden.

Die quantitative Bestimmung des Seromucoids ist im Blute vom Pferde, vom Hunde und von der Katze vorgenommen worden. Das Blut wurde sowohl von gut genährten wie von hungernden Tieren genommen. Die Pferde wurden durch einen Schuß in die Stirn getötet und das Blut unmittelbar darnach aus der Halsader gewonnen. Die Blutproben vom Hunde und von der Katze wurden auch aus eröffneten Gefäßen des Halses gesammelt, die Tiere wurden, wenn nötig, zuvor mit Chloroform betäubt.

Ich will die vorläufigen Versuche übergehen, in welchen die Einzelheiten des Bestimmungsverfahrens ausgearbeitet wurden und nur folgende Angaben über den Zustand der Tiere und über die analytischen Daten machen.

1. Pferd; ohne Nahrung während 24 Stunden vor der Tötung.

1000 ccm Blut ergaben 0,110 g Blutzucker und 0,175 g Gesamtzucker, entsprechend 0,110 g und 0,175 g im Liter.

2. Pferd; in ausgezeichneter Verfassung. Am Tage vor der Tötung mit Bohnen und Hafer ad lib. gefüttert.

1000 ccm Blut ergaben 0,151 g Blutzucker und 0,206 g Gesamtzucker, entsprechend 0,151 g und 0,206 g pro Liter.

3. Pferd; mit Bohnen, Kleie und Heu 4 Tage lang vor der Tötung gefüttert.

500 ccm Blut ergaben 0,085 g Blutzucker und 0,1035 g Gesamtzucker, entsprechend 0,170 g und 0,207 g pro Liter.

4. Pferd. Ein Quantum dieses Pferdeblutes wurde defibriniert und 2 Tage stehen gelassen. Das Serum wurde dann abgegossen und die zurückbleibende, halbfeste Masse der Blutkörperchen zur Analyse verwendet.

1500 ccm Blutkörperchen ergaben 0,0645 g Blutzucker und 0,0540 g Gesamtzucker, entsprechend 0,043 g und 0,036 g pro Liter.

5. Hund; 36 Stunden vor der Tötung ohne Nahrung. Magen nach der Tötung nicht ganz geleert.

560 ccm Blut ergaben 0,0641 g Blutzucker und 0,1040 g Gesamtzucker, entsprechend 0,117 g und 0,189 g pro Liter.

6. Hund; 3 Tage vor der Tötung ohne Nahrung.

495 ccm Blut ergaben 0,0299 g Blutzucker und 0,0701 g Gesamtzucker, entsprechend 0,061 g und 0,143 g pro Liter.

7. Hund; 3 Tage lang mit Brot und Milch gefüttert. Letzte Mahlzeit 4 Stunden vor der Tötung. Post mortem große Stärkemenge im Magen. Das Blut wurde in 2 Teile geteilt.

310 ccm Blut ergaben 0,0388 g Blutzucker und 0,0738 g Gesamtzucker, entsprechend 0,125 g und 0,238 g pro Liter.

330 ccm Blut ergaben 0,0399 g Blutzucker und 0,0719 g Gesamtzucker, entsprechend 0,121 g und 0,218 g pro Liter.

8. Hund; gefüttert mit Hundekuchen. Letzte Mahlzeit $5^1/_2$ Stunden vor der Tötung; Magen post mortem mit halbverdauter Nahrung gefüllt.

270 ccm Blut ergaben 0,0400 g Blutzucker und 0,0886 g Gesamtzucker, entsprechend 0,148 und 0,328 g pro Liter.

9. Hund; gefüttert mit Hundekuchen und etwas Fleisch. Letzte Mahlzeit 4 Stunden vor der Tötung. Magen nach dem Tode reichlich mit Nahrung gefüllt.

410 ccm Blut ergaben 0,0529 g Blutzucker und 0,1517 g Gesamtzucker, entsprechend 0,1299 und 0,370 g im Liter.

10. Katze; mit Hundekuchen gefüttert. Letzte Mahlzeit 6 Stunden vor dem Tode. Magen nach dem Tode voll von Nahrung.

89 ccm Blut ergaben 0,0417 g Gesamtzucker, entsprechend 0,0468 g pro Liter.

11. Katze; drei Tage lang mit Brot und Milch gefüttert. Magen post mortem voll Nahrungsresten.

120 ccm Blut ergaben 0,0240 g Blutzucker und 0,0581 g Gesamtzucker, entsprechend 0,200 g und 0,484 g pro Liter.

Die obigen Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Menge des Seromucoidkohlenhydrates, als Glucose ausgedrückt, und des Seromucoids in Gramm pro Liter Blut der verschiedenen Tiere.

Nummer des Versuchs	Tier	Ernährungszustand	Totalreduktion	Reduktion durch anhaftenden Blutzucker	Reduktion durch das Seromucoidkohlenhydrat	Menge des Seromucoids
1	Pferd	Hungertier	0,175	0,110	0,065	0,260
2	„	gut gefüttert	0,206	0,151	0,055	0,220
3	„	„	0,207	0,170	0,037	0,148
4	„	„	0,036	0,043	0,0	0,0
5	Hund	Hungertier	0,189	0,117	0,071	0,284
6	„	„	0,143	0,061	0,082	0,328
7	„	gut gefüttert (Kontrollvers. 1)	0,238	0,125	0,113	0,452
8	„	„ („ 2)	0,218	0,121	0,097	0,388
8	„	„	0,328	0,148	0,180	0,720
9	„	„	0,370	0,129	0,241	0,964
10	Katze	„	0,468	—	—	—
11	„	„	0,484	0,200	0,284	1,136

Obgleich die absolute Menge des Seromucoids im Blute klein ist, ist sie trotzdem im Verhältnis zu den anderen vorhandenen Proteinen nicht unbedeutend. Wenn man die Zahlen für den Gesamteiweißgehalt des Blutes nimmt, die Abder-

halden[1]) angibt, so findet man, daß Seromucoid ungefähr $^1/_2$ % des Eiweißes im Pferdeblut ausmacht, 1 bis 2 % in demjenigen des Hundes und 3 % in dem der Katze. Außerdem bildet seine große Kohlenhydratmenge ungefähr 10 % des Gesamteiweißkohlenhydrats.

Man kann weiter sehen, daß die Seromucoidmenge im Blut erheblich schwankt, da sie von der Art des Tieres abhängig ist, dessen Blut man nimmt, und auch von dem Ernährungszustande während der Zeit, in der man das Blut entzieht. Der Einfluß der Ernährung ist bei dem Versuch am Pferde nicht gerade augenfällig; aber dies konnte man auch nicht anders erwarten, denn der Dünndarm ist bei diesem Tiere so lang, daß weder Hunger noch reichliche Fütterung in kürzerer Zeit den Umfang der Resorption im Verdauungskanal zu beeinflussen vermögen.

Beim Hunde konnte man hingegen bei seinem kurzen Verdauungskanal erwarten, daß er schnell auf jede Nahrungsveränderung reagieren würde, und man fand tatsächlich, daß die Seromucoidmenge im Blut von hungernden Hunden ungefähr 0,3 g pro Liter betrug, während sie bei Tieren auf der Höhe der Verdauung den doppelten bis dreifachen Wert erreichte. Je größer die Resorptionstätigkeit ist, desto größer scheint die Seromucoidmenge für gewöhnlich im Blute zu sein.

Schlußbemerkungen.

Die im einzelnen wiedergegebenen Ergebnisse stimmen zumeist mit denen von Zanetti überein und bestätigen seine Befunde. Seromucoid ist ein typisches Mucoid, das 25 % Kohlenhydrat im Molekül enthält, und dieses Kohlenhydrat ergibt bei der Hydrolyse Glucosamin. Es ist schwer, einen Grund dafür anzugeben, warum die Spaltung so verläuft, daß sie zur Abspaltung von Glucosamin anstatt Glucose führt. Ob mildere Methoden der Hydrolyse zu einer Loslösung der Glucose führen werden, während die Aminogruppe am stickstoffhaltigen Teil des Moleküls haften bleibt, ist eine noch offene Frage. Obgleich, wie man schon betont, die Seromucoidmenge im Blute klein ist, bedingt sie trotzdem 10 % der Gesamtkohlenhydrat-

[1]) Physiol. Chem., 1906, S. 592.

menge im Blute. Da man die Zunahme seiner Menge nach dem Genusse einer Kohlenhydratnahrung beobachtete, so ist zu vermuten, daß auf jeden Fall ein an Eiweiß gebundener Teil des Kohlenhydrats durch die Zirkulation in Umlauf gesetzt wird, eine von Pavy eifrig verfochtene Anschauung.

Diese Ansicht ist schon zum Gegenstand einer experimentellen Prüfung in einer Richtung gemacht worden. Der Durchgang des Seromucoids durch das Zirkulationssystem schließt als ein funktioneller Vorgang den Aufbau und auch das Vorhandensein einer größeren oder kleineren Menge im Magendarmkanal in sich. Tatsächlich ergab sich, daß ein Mucoid, das dem Seromucoid sehr ähnlich, wahrscheinlich mit ihm identisch ist, leicht aus der Darmschleimhaut ausgezogen werden kann.

Eine Mitteilung über diesen Gegenstand soll bald veröffentlicht werden, und dann wird sich die Gelegenheit bieten, näher auf diese hier nur kurz angedeuteten Punkte einzugehen.

Übersicht.

Es ist die Gegenwart von Seromucoid im normalen Blute festgestellt.

Seromucoid ähnelt weitgehend dem Ovomucoid, doch unterscheidet es sich von ihm durch den positiven Ausfall der Glyoxylsäure- (Adamkiewiczschen) Reaktion und den fast negativen Verlauf der Schwefelbleiprobe. Bei der Analyse wurde ein Gehalt von C = 47,6%, H = 6,8%, N = 11,6% und S = 1,75% und ferner von ungefähr 25% Kohlenhydrat gefunden, das in der für Mucoide charakteristischen Bindung vorhanden ist. Das Hauptprodukt bei der Hydrolyse der Kohlenhydratgruppe war Glucosamin, das durch die Art der Darstellung, seine Eigenschaften und die Analyse seiner Pentabenzoylverbindung identifiziert wurde.

Die Seromucoidmenge des Blutes nimmt beim Hunde nach einer kohlenhydrathaltigen Mahlzeit zu, und zwar ungefähr von 0,3 g bis 0,9 g pro Liter Blut.

Über die sog. „Albumose" im normalen Blute.

Von

H. W. Bywaters.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität London.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1908.)

Die neuen, durch Cohnheim begründeten Ansichten über den Umfang, in welchem das Nahrungseiweiß vor der Resorption im Magendarmkanal aufgespalten wird, haben zu einer erneuten Untersuchung des Blutes geführt, in der Hoffnung, ein abschließendes Urteil in dieser Frage fällen zu können. Einerseits haben die Vertreter der neuen Theorie auf die verschiedenen Aminosäuren gefahndet, während andererseits ihre Gegner nach Verbindungen von Albumosetypus gesucht haben, durch deren Vorkommen erwiesen wäre, daß die Resorption erfolgen kann, bevor die Hydrolyse im Verdauungskanal das Aminosäurenstadium erreicht hat. Wie dem auch sei, während einigen Forschern der Nachweis einer sog. Albumose im normalen Blute gelang, verlief die Prüfung anderer vollständig resultatlos. Meiner Überzeugung nach bringt die voraufgehende Arbeit über „Seromucoid" genügend Material, um die Ursache der erwähnten Abweichungen zu erklären; ich möchte darauf besonders hinweisen und diesen Befund zum Ausgangspunkt meiner Betrachtüngen machen.

In der diesbezüglichen Mitteilung ist die Aufmerksamkeit wieder auf einen normalen Blutbestandteil gelenkt, dem man meiner Ansicht nach kaum die gebührende Bedeutung beigemessen hat. Die in Frage stehende Substanz, das Seromucoid, wurde im Jahre 1897 von Zanetti[1]) entdeckt; der Autor betonte auch, daß es in seinen Eigenschaften genau der jetzt wohlbekannten Substanz Ovomucoid gleicht. Ich konnte die Angaben Zanettis

[1]) Ann. di Chim. e di Farmac. 12, 1, 1897.

bestätigen und erweitern sowie schließlich zeigen, daß das Seromucoid vermöge seiner Stellung zwischen den gerinnbaren Proteinen einerseits und den Peptonen andrerseits bald mit dem einen und bald mit dem andern Vertreter dieser Klassen stickstoffhaltiger Substanzen zusammengeworfen ist und dadurch zu der vorhandenen Verwirrung Anlaß gegeben hat.

Im Jahre 1903 warfen Embden und Knoop[1]) diese Frage nach dem Vorkommen oder Nichtvorhandensein von Albumose im normalen Blute wieder auf, welche Neumeister 14 Jahre früher unbedingt im verneinenden Sinne beantwortet hatte. Neumeisters Methodik ist sicherlich nicht zu empfehlen, wo nur kleine Quantitäten von Albumosen erwartet werden können. Sie beruhte im wesentlichen in einer Extraktion des getrockneten Blutes mit Wasser, nachdem vorher durch Behandlung mit absolutem Alkohol Gerinnung bewirkt worden war; und wahrscheinlich ist die bekannte Adsorptionskraft getrockneter Koagula für Embden und Knoop die Veranlassung gewesen, auf andere Weise die Untersuchungen wieder aufzunehmen. Bei ihren Experimenten wurde das Blut direkt in eine kochende 1%ige Lösung von Monokaliumphosphat gebracht und das Filtrat des geronnenen Eiweißes zu einer kleinen Menge eingedampft. Nun wurde der Versuch gemacht, noch restierendes, gerinnbares Protein durch Zusatz eines halben Volumens gesättigter, 0,4% konzentrierte Schwefelsäure enthaltender Zinksulfatlösung zu entfernen. Bei Prüfung des Filtrates mit der Biuretreaktion wurde in einigen Fällen Albumose gefunden, während in anderen keine Spur davon entdeckt werden konnte.

Die Resultate dieser Autoren waren recht verschieden und widersinnig. Blut von hungernden Tieren zeigte mehr Albumose als das von gut genährten, welche auf der Höhe der Verdauung und Resorption getötet waren. Die Erklärung hierfür liegt nahe. Sie ergibt sich aus der Tatsache, daß Seromucoid teilweise, aber auch nur teilweise, aus seinen Lösungen durch ein halbes Volumen angesäuerter gesättigter Zinksulfatlösung gefällt wird. Aus der Arbeitsweise von Embden und Knoop geht nunmehr klar hervor, daß verschiedene Mengen des biuretgebenden Seromucoids in ihr zur Prüfung benutztes Filtrat übergingen.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 120, 1903.

Bald nach der Arbeit von Embden und Knoop erschien eine Mitteilung von Langstein,[1]) welche die Richtigkeit jener Arbeit ungeachtet der darin enthaltenen Widersprüche bestätigte. Seine Methode bestand darin, das verdünnte Blut nach dem Ansäuern in der Hitze zu koagulieren und die Albumose durch Zusatz von Alkohol aus dem eingeengten Filtrate niederzuschlagen. Diese Behandlung hat eine völlige Fällung des Seromucoids zur Folge, und so ist es kaum zweifelhaft, daß Langsteins Substanz aus einer Mischung dieses Glucoproteins mit restierendem, gerinnbarem Eiweiß bestand. Langstein erwähnt wohl Zanettis Befunde, trug aber Bedenken, sein Produkt mit Seromucoid zu identifizieren, angesichts der unerklärbaren Unterschiede hinsichtlich der Intensität der Schwefelreaktion und der Menge des bei der Hydrolyse abgespaltenen Kohlenhydrats.

In einer späteren, gemeinschaftlich mit v. Bergmann[2]) veröffentlichten Arbeit teilte Langstein auf Grund von Kjeldahlbestimmungen einige Daten über den Reststickstoff im Filtrate der koagulierten Blutproteine mit. Die erhaltenen Werte waren schwankend. Die höchsten Zahlen wurden in solchen Fällen erzielt, in denen Hunde auf der Höhe der Verdauung getötet wurden, ein Befund, der mit den Angaben meiner voraufgehenden Mitteilung im Einklange steht. Die Menge des Reststickstoffes, welche Langstein und v. Bergmann erhielten, schwankt zwischen 0,048 und 0,0147 g pro 100 ccm Plasma. Diese Zahlen schließen natürlicherweise den Stickstoff des Harnstoffs, des Ammoniaks und anderer löslicher, stickstoffhaltiger Substanzen des Blutes ein, so daß kein richtiger Vergleich möglich ist.

Inzwischen erschien eine kurze Abhandlung von Abderhalden und Oppenheimer,[3]) in welchem angegeben ist, daß keine Spur einer biuretgebenden, nicht koagulierbaren Substanz im Blutplasma von Hunden, Kaninchen, Pferden, Ochsen oder Meerschweinchen bis auf drei Fälle nachgewiesen werden konnte. Andererseits hatte F. Kraus[4]) quantitativ die Menge der sog. Albumose im arteriellen und portalen Blute von Hunden

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 373, 1903.
[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 37, 1905.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 155, 1904.
[4]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 3, 52, 1906.

in verschiedenen Stadien der Ernährung festgestellt. Seine Methode, welche bemerkenswert übereinstimmende Resultate lieferte, bestand darin, koagulables Eiweiß durch Kochen in üblicher Weise zu entfernen und dann nach Kjeldahl den Stickstoffgehalt der durch Zinksulfat aus dem eingeengten Filtrat ausgesalzenen Albumose zu bestimmen. Da nun das Seromucoid durch Zinksulfat vollständig aus seinen Lösungen abgeschieden wird, nimmt es nicht wunder, daß die Ausbeute an Blutalbumosen, nach Kraus' Zahlen als Eiweiß berechnet, nämlich 0,56 zu 1,25 g pro Liter, ziemlich mit jener übereinstimmt, welche in der vorangehenden Mitteilung für Seromucoid angegeben ist.

Im folgenden Jahre beschrieb Freund[1]) einige Dünndarmdurchströmungsversuche. Die benutzte Methode der Albumosebestimmung ähnelte der von Kraus, und er fand, daß die Menge der sog. Albumose im Blute nach zweistündiger Durchströmung durch den resorbierenden Darm unverändert war. Nach den übereinstimmenden Resultaten von Freund und Kraus, aber im Gegensatze zu den meinigen, ist die Albumosenmenge im Blute unabhängig von der Resorption der verdauten Nahrung.

Die Frage betreffs der Beweiskraft der Angaben von Freund und Kraus ist neuerdings von Abderhalden[2]) erörtert worden. Er hat hinsichtlich der Genauigkeit der Zahlen Bedenken geltend gemacht und gleichzeitig die Unsicherheit betont, die, wie er meint, den Resultaten anhaften muß, die auf Stickstoffbestimmungen in Zinksulfatniederschlägen beruhen. Andererseits muß zugegeben werden, wie Freund bereits betont hat,[3]) daß gegen die Methodik Abderhaldens und seiner Mitarbeiter bei diesen Untersuchungen ebenfalls Einwände gemacht werden können. Die kurzen Angaben der erwähnten Mitteilung von Abderhalden und Oppenheimer berechtigten Freund zu der Behauptung, daß die Biuretprobe auf Albumose (und somit auch auf Seromucoid) mit einem zu sehr verdünnten Blutauszuge angestellt sei. In einem weiteren Beitrage von Abderhalden

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 1, 1907.
[2]) Diese Zeitschr. 8, 360, 1908.
[3]) Diese Zeitschr. 7, 361, 1907.

gemeinsam mit Funk und London[1]) wurde die Biuretreaktion mit einem Blutextrakte angestellt, dem die letzten Spuren koagulablen Eiweißes durch Behandlung mit einer Mastix-Gummilösung nach den Angaben von L. Michaelis und P. Rona[2]) entzogen waren. Aber diese Autoren haben gezeigt,[3]) daß Albumosen — und speziell solche komplexer Natur (d. h. seromucoidähnliche) — zum Teil durch jenes Fällungsmittel aus ihren Lösungen niedergeschlagen werden. Unter diesen Umständen ist es kaum zu verwundern, daß es Abderhalden unmöglich war, irgend etwas seromucoidähnliches im Blute zu finden. So entbehrt seine Arbeit viel von dem Wert, der ihr beigemessen wurde.

Bevor ich schließe, möchte ich noch auf die Arbeit von Morawitz und Dietschy hinweisen,[4]) welche Abderhalden herangezogen hat, um eine Erklärung für die abweichenden Resultate Freunds von den seinigen zu geben. Die von den erwähnten Autoren angewendete Methode bestand in der Entfernung des Eiweißes durch Auskoagulieren und nachfolgendem 5- bis 6stündigem Kochen mit angesäuertem 70%igem Alkohol. Das Filtrat, in welchem eventuell Albumose zu finden gewesen wäre, wurde mit Zinksulfat gesättigt und das wässerige Filtrat auf das Vorhandensein biuretgebender Substanzen geprüft. Da nun Blutplasma negative Resultate ergab, dagegen eine positive Reaktion beobachtet wurde, wenn Blut oder sogar Hämoglobinlösungen angewendet wurden, so wurde der Schluß gezogen, daß die beobachtete Biuretreaktion nicht präformierter Albumose, sondern zersetztem Hämoglobin zuzuschreiben sei. Nun geben Morawitz und Dietschy zu,[5]) daß nach ihrer Methode höhere Albumosen nicht aufgefunden werden können, und dasselbe kann auch für Seromucoid behauptet werden, welches in 70%igem Alkohol unlöslich ist. Der Mißerfolg dieser Autoren, Albumosen oder Seromucoid im Blute aufzufinden, beweist also gar nichts.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß bei Identifizierung der sog. Blutalbumose mit Seromucoid eine beinahe

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 269, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. 2, 219, 1906.

[3]) Diese Zeitschr. 3, 109, 1907.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 54, 97, 1905.

[5]) l. c. S. 92.

vollständige Einigung zwischen den widersprechenden Ansichten erzielt worden ist. Was man für Albumose gehalten hat, war in Wirklichkeit Seromucoid, welches hochmolekularen Charakter mit großer Löslichkeit in heißem Wasser verbindet; sein Vorhandensein ist von einigen Autoren konstatiert, dagegen nicht von anderen, nämlich nicht von denen, welche sich einer Methode zum Nachweise von Albumosen im Blute bedienten. Es steht hiernach wohl fest, daß keine stickstoffhaltige Substanz von wahrer Albumosennatur in normalem Blute vorhanden sein kann.

Über die Herkunft des Seromucoids wird in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Über Speichelbeschaffenheit und Zahnverderbnis.

Von

H. van der Molen und J. Offringa.

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen.)

(Eingegangen am 9. Dezember 1908.)

Im Dezember 1905 erschien in der „Deutschen Monatsschrift für Zahnheilkunde“ eine Abhandlung von C. Röse über „Zahnverderbnis und Speichelbeschaffenheit“.

Diese Arbeit war für die medizinische Fakultät der Reichsuniversität Groningen die Anregung zu einem Preisausschreiben, in welchem eine kritisch-experimentelle Untersuchung über den von Röse konstatierten Zusammenhang zwischen Caries einerseits und Alkali- und Calciumgehalt des Speichels andererseits gefordert und im Falle der Bestätigung dieser Angaben, eine Erklärung für die Erscheinung verlangt wurde.

Im folgenden geben wir einen kurzen Auszug unserer von obengenannter Fakultät preisgekrönten Bearbeitung.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß von zwei Menschen, welche unter denselben Bedingungen leben, der eine absolut frei von Zahncaries sein kann, während beim anderen fast jeder Zahn die Verheerungen dieser Krankheit aufweist.

Die Ursachen dieser verschiedenen Verhältnisse hat man, nach Miller[1]), einerseits in den Zähnen selbst, andererseits auch außerhalb der Zähne zu suchen.

Auf seiten der Zähne ist das Hauptmoment in dem Widerstande, welchen die Zahngewebe dem zerstörenden Einfluß von

---

[1]) W. D. Miller: Weitere Studien über die Frage der relativen Immunität gegen Zahncaries. Deutsche Monatsschrift für Zahnheilkunde, Juli 1905.

Säuren bieten zu suchen; ein zweiter Faktor liegt in dem Widerstande, welchen die entkalkten Gewebe mechanischen Einflüssen sowie der auflösenden Wirkung von bakteriellen Fermenten entgegenstellen.

Unter denjenigen Faktoren, welche außerhalb der Zähne liegen und den Angriff auf dieselben führen resp. beeinflussen, muß man sowohl die Quantität des Speichels, seine physikalische und chemische Beschaffenheit und seine angebliche bactericide Wirkung, weiter die Beschaffenheit der Nahrung, die Form und Stellung der Zähne, die Natur und Anzahl der Bakterien im Munde usw. in Betracht ziehen.

Die Reaktion, bzw. die Alkalescenz ev. zahnschützende Eigenschaft des Speichels, ist also eine Unterabteilung der zuletzt genannten, außerhalb der Zähne liegenden Ursachen, welche die Caries beeinflussen können.

Mit dieser Frage nun beschäftigten sich, bevor Röse obengenannte Abhandlung veröffentlichte, u. a. a. Michel[1]) und Miller[2]).

Röse nahm nun die vorher von Michel und Miller veröffentlichten Befunde zur Grundlage seiner Besprechung und Kritik und fügte seine Untersuchungen bei 219 Kindern von 12 bis 14 Jahren dazu.

Am meisten tritt bei diesen Untersuchungen die Schlußfolgerung (S. 715 der obengenannten Monatsschrift) hervor: daß genau im gleichen Grade mit der Zunahme der Speichelalkalescenz die Häufigkeit der Zahnerkrankung abnimmt.

Röse läßt die Versuchskinder auf Wattebäusche kauen. Der in dieser Weise erhaltene Speichel wird aufgefangen, die Quantität und Alkalescenz desselben bestimmt und außerdem für jedes Versuchskind die Zahl der anwesenden und die der erkrankten Zähne notiert.

Die so erhaltenen Zahlen von Speichelalkalescenz und Cariesfrequenz wurden in einer Tabelle geordnet, und aus dieser Tabelle geht nach Röse die obengenannte Folgerung hervor.

---

[1]) Michel: Der Speichel als natürlicher Schutz gegen Caries. Deutsche Monatsschrift für Zahnheilkunde 1901.

[2]) l. c. S. 387 usw.

Das erste Erfordernis bei jeder Statistik ist wohl die Richtigkeit der Daten; nun scheinen uns aber die von Röse bei der Ableitung dieser Daten angewandten Methoden nicht unanfechtbar.

Wir besprechen der Reihe nach die folgenden Punkte:

1. Die Bestimmung der Speichelalkalescenz.

2. Die Speichelentnahme.

3. Den Grad des Cariesprozesses und dessen Bestimmung.

Zugleich wird bei jeder Abteilung der Weg mitgeteilt, welcher unserer Meinung nach zum Erhalten eines zuverlässigen Resultates befolgt werden sollte.

1. Die Bestimmung der Speichelalkalescenz.

Röse bestimmte die Speichelalkalescenz durch Titrieren mittels $n/_{10}$-HCl-Lösung unter Anwendung von Lackmuspapier als Indikator. S. 714 seiner Arbeit sagt Röse: Zur Bestimmung der Speichelalkalescenz ist die sogenannte „Tüpfelmethode“ mit Lackmuspapier weitaus am meisten geeignet.

Es scheint uns, daß hiermit Röse ganz unrecht hat. Haben wir doch im Speichel eine Flüssigkeit, welche wie eine schwache Basen enthaltende Lösung behandelt werden muß. Daraus erfolgt, daß der fürs Titrieren bestimmte Indicator empfindlich für Basen und unempfindlich für Säuren sein soll. Gilt es nun, schwache Basen zu titrieren, so soll der Indicator ein solcher mit ausgesprochen saurem Charakter sein; alsdann wird auch nahe beim Endpunkte des Titrierens (nachdem die Konzentration der Basen eine niedrige geworden ist) nur eine geringe hydrolytische Spaltung des Indicatorsalzes erfolgt sein und die Färbung der Anionen noch vorherrschen. Eine Anforderung ist es daneben, daß für die Bestimmung der Alkalescenz eine der starken Säuren angewendet wird; der erste Tropfen über den Neutralisationspunkt hinaus wird alsdann die elektrolytische Dissoziation des Indicators soviel wie möglich zurückhalten und die Flüssigkeit dadurch die Färbung des nicht ionisierten Indicators annehmen.

Methylorange ist nun wohl der Indicator, welcher am meisten diesen Anforderungen entspricht, wie auch Fritz Glaser in „Indicatoren der Acidimetrie und Alkalimetrie" hervorhebt.

Das Lackmuspapier ist bei quantitativen Bestimmungen nur zum Titrieren starker oder höchstens mittelstarker Basen zu verwenden; bei schwachen Basen ist es nur für qualitative Zwecke zu empfehlen.

Aber noch ein anderer Umstand macht es notwendig, bei der Bestimmung der Speichelalkalescenz von Lackmus als Indikator abzusehen.

Schon Dieminger[1]) richtete die Aufmerksamkeit darauf, daß der Speichel nach Pflügers Untersuchungen freies Kohlendioxyd enthält. Eine Reihe von Indikatoren, welche von Dieminger zur Bestimmung der Reaktion angewendet wurden, ergaben wechselnde Resultate, nur Methylorange ergab konstant die alkalische Reaktion. Diese wechselnden Resultate rühren von der verschiedenen Empfindlichkeit der Indikatoren für CO_2 her. Es ist mit anderen Worten notwendig, einen für CO_2 nicht empfindlichen Indikator zu benutzen.

Röse selbst hebt hervor (S. 712), daß Lackmus bekanntlich sehr empfindlich für CO_2 ist. Die dort angegebenen Nachteile sind für den Autor nicht von solcher Wichtigkeit gewesen, daß er vom Lackmuspapier abgesehen hat. Er verwendet aber ein „sehr empfindliches Lackmuspapier". Nach unserm Erfahren ist auch das meist empfindliche Lackmuspapier für unsere Zwecke unbrauchbar, wie sofort aus einem Vergleiche mit Methylorange hervorgeht.

Folgende Versuche illustrieren diese Tatsache. Das verwendete Lackmuspapier wurde uns liebenswürdig von Röse geschickt. Es wurden für die zehn Versuche zwei verschiedene Mengen filtrierten Speichels gebraucht, die wir A und B nennen.

Bei jedem Versuch kamen jedesmal 5 ccm von A resp. B zur Untersuchung. Solange wird dann $^{n}/_{10}$-HCl-Lösung zugefügt, bis ein Tropfen der Flüssigkeit auf sehr empfindlichem roten

---

[1]) H. Dieminger, Beiträge zur Kenntnis des menschlichen Mundspeichels in gesunden und pathologischen Verhältnissen. Diss., Würzburg 1898.

Lackmuspapier keine Blaufärbung hervorruft und die zugefügte Quantität Säurelösung notiert. Nun wird zu derselben Flüssigkeit, also Speichelmenge und bereits zugefügte Säurelösung, Methylorange hinzugefügt: stets findet man die Reaktion noch alkalisch.

Das Titrieren wird fortgesetzt, bis der Farbenwechsel den Neutralisationspunkt angibt, und auch dieser Punkt wird nun notiert.

Versuche mit A			Versuche mit B		
Alkalescenz von 5 ccm filtriertem Speichel, ausgedrückt in ccm $^n/_{10}$-HCl-Lösung.					
	Indicator Lackmuspapier	Indicator Methylorange		Indicator Lackmuspapier	Indicator Methylorange
1	0,9	1,1	1	0,7	1,0
2	0,6	1,1	2	0,6	1,0
3	0,6	1,1	3	0,4	1,0
4	0,9	1,1	4	0,7	1,0
5	0,7	1,1			
6	0,6	1,1			

Man sieht: mittels Methylorange werden stets dieselben Werte erhalten, während die mittels Lackmuspapier gefundenen Zahlen wechselnd sind.

Methylorange ist nun sehr wenig, praktisch fast nicht empfindlich für CO_2. Höchstens macht sich beim Übergang von gelb bis rot eine leichte Zwischenfarbe geltend, aber man kann sich diesem Einflusse leicht entziehen, wenn man durch Zufügen eines Überschusses von Säure und Zurücktitrieren mit Alkali den Neutralisationspunkt kontrolliert.

Glaser[1]) meint, daß auch bei künstlicher Beleuchtung der Indicator brauchbar ist und der Neutralisationspunkt sich leicht erkennen läßt. Wir können dieses nicht bejahen; der Farbenwechsel von gelb bis rot wird ganz undeutlich und durch die gelben Nuancen des Kunstlichtes verdeckt. Es ist deswegen notwendig, das Titrieren beim Tageslicht auszuüben.

---

[1]) Fritz Glaser, Indikatoren der Acidi- und Alkalimetrie.

2. Die Speichelentnahme.

Röse titrierte die Speichelproben, welche er bei seinen Versuchskindern morgens vor dem Frühstücke gesammelt hatte. Er ließ sie für diesen Zweck 45 Minuten auf Wattebäuschen kauen und den Speichel ausspucken. Er bestrebte sich, große Quantitäten für seine Totalanalysen zu erhalten.

Der Autor bestimmt nun die Alkalescenz einer gewissen Menge Speichels oder berechnet sie für alle Fälle auf dieselbe Quantität. In dieser Weise erhält er die Zahlen für seine Tabellen auf S. 716 und 717 seiner obengenannten Arbeit.

Braucht man für seine Versuche größere Quantitäten, so ist die von Röse verwendete Methode der Speichelsammlung sicher die praktischste und bequemste, indem man ja den Willen und Wünschen seiner Versuchspersonen Rechnung tragen muß und die Watte als solche die Speichelzusammensetzung nicht beeinflusst.

Man darf jedoch nicht von vornherein annehmen, daß der durch einen Kauakt von 45 Minuten erhaltene Speichel in allen seinen Eigenschaften den Speichel repräsentiert, welcher normaliter im Laufe des Tages im Munde vorhanden ist, und dennoch soll für einen eventuellen zahnschützenden Einfluß der zuletzt genannte Speichel an erster Stelle in Betracht kommen; kann er ja einerseits dadurch wirksam sein, daß die Speisereste in mechanischer Weise abgespült werden, andererseits mittels seiner Alkalescenz auf die durch Gärung entstandenen Säuren einwirken.

Dieses Bedenken gegen die von Röse befolgte Methode wiegt um so schwerer, wenn man die Tatsache ins Auge faßt, daß während des Kauaktes, also auch bei der Speichelsammlung, wie Röse sie anstellte, sich die Speichelalkalescenz steigert. Der am Ende des Kauens abgeschiedene Speichel hat eine höhere Alkalescenz als der beim Anfange des Kauens sich sammelnde.

Wir fanden dieses bei mehreren Versuchspersonen und geben die Resultate in den folgenden Tabellen wieder:

ccm Speichel der Reihe nach abgeschieden	Versuchsperson A	Versuchsperson B	Versuchsperson C	Versuchsperson D
	Alkalescenz von 1 ccm Speichel in ccm $^n/_{100}$-HCl			
1.	1,4	2,2	1,2	1,1
2.	1,6	2,3	1,3	1,6
3.	1,7	2,4	1,3	1,6
4.	1,8	2,4	1,4	1,6
5.	1,9	2,5	1,4	1,7
6.	1,9	2,5	1,4	1,7
7.	1,9	2,5	1,5	1,7
8.	2,0	2,6	1,5	1,8
9.	2,0	2,6	1,6	1,8
10.	2,1	2,7	1,6	1,8

Der Speichel wurde durch Kauen auf Wattebäuschen gesammelt. Jede Menge von ca. 1 ccm wurde gesondert ausgespuckt und der Reihe nach untersucht; die Alkalescenz von 1 ccm Speichel ist ausgedrückt in ccm $^n/_{100}$-HCl-Lösung. Methylorange ist als Indicator verwendet.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Steigerung der Alkalescenz durch den Kauakt bei jedem Individuum nicht dieselbe ist. Auch wird sie beim selben Individuum zu verschiedenen Versuchen nicht gleich groß befunden, wie die folgende Tabelle zeigt. Die Versuche wurden bei demselben Individuum an verschiedenen Tagen auf oben angegebene Weise angestellt.

ccm Speichel der Reihe nach abgeschieden	Versuch am 1. Tag	Versuch am 2. Tag	Versuch am 3. Tag	Versuch am 4. Tag
	Alkalescenz von 1 ccm Speichel in ccm $^n/_{100}$-HCl			
1.	1,4	1,7	1,4	1,6
2.	1,6	1,8	1,5	1,6
3.	1,7	1,9	1,5	1,7
4.	1,8	1,9	1,6	1,8
5.	1,9	2,0	1,7	1,9
6.	1,9	2,2	1,8	1,9
7.	1,9	2,2	1,8	2,0
8.	2,0	2,3	1,9	2,1
9.	2,0	2,4	2,0	2,1
10.	2,1	2,4	2,0	2,2

Mit dem Kauen wird bei der Speichelsammlung also ein Faktor eingeführt, welcher Schwankungen der Speichelalkalescenz vortäuscht, welche eigentlich nicht vorhanden sind.

Diesem Fehler entgeht man nun bei der Untersuchung des Speichels, welche ohne Anwendung eines äußeren Reizes abgeschieden wird. Man muß sich dann mit geringen Quantitäten begnügen. Es gelang uns aber stets, ohne Verwendung irgendeines Stimulanz innerhalb 1 bis 2 Minuten 1 ccm Speichel zu sammeln, und diese Quantität ist zur Bestimmung der Alkalescenz mittels $^{n}/_{100}$-HCl-Lösung völlig hinreichend. Eine übersichtliche Menge erhält man durch Zufügen von einigen Kubikzentimetern destillierten Wassers.

Bestimmt man die Alkalescenz des in dieser Weise gesammelten Speichels in jeder Tagesstunde, so erhält man verschiedene Resultate, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht.

Versuchszeit	Alkalescenz von 1 ccm Speichel in ccm $^{n}/_{100}$-HCl-Lösung	Versuchszeit	Alkalescenz von 1 ccm Speichel in ccm $^{n}/_{100}$-HCl-Lösung
$6^1/_2$ morgens nüchtern	2,5	8 morgens nüchtern, nach diesem Versuche Frühstück	2,9
$7^1/_2$ morgens, nach diesem Versuche Frühstück	1,6	9 morgens	1,3
$8^1/_2$ morgens	1,2	10 morgens	1,6
11 morgens	1,8	11 morgens	1,9
12 mittags	1,8	12 mittags	1,8
1 nachmittags, nach diesem Versuche Mittagessen	1,9	1 nachmittags, nach diesem Versuche Mittagessen	2,4
2 nachmittags	1,2	2 nachmittags	1,8
3 nachmittags	2,0	3 nachmittags	2,1
4 nachmittags	2,1	4 nachmittags	2,3

Nach jeder Mahlzeit findet man die Alkalescenz stark erniedrigt. Es besteht offenbar ein Zusammenhang zwischen Speichelzusammensetzung und Tageszeit, vielleicht auch eine Abhängigkeit derselben von den Mahlzeiten.

Schon dieser Befund führt zu dem Gedanken, daß die Speichelzusammensetzung von der Nahrung abhängig ist, sowohl was die Aufnahmezeit als die Quantität und Qualität der Nahrungsmittel anbelangt.

Wenn man nun bei übrigens gleichen Bedingungen (Mahlzeiten an jedem Tag zur selben Stunde usw.) aber bei wechselnder Diät, die Speichelalkalescenz an verschiedenen Tagen zu einer bestimmten Stunde prüft, so findet man sie verschieden, wie folgende Befunde demonstrieren.

Versuch am	Alkalescenz von 1 ccm Speichel in ccm $^n/_{100}$-HCl
13. III. 08	2,1
16. III. 08	1,9
17. III. 08	1,8
20. III. 08	2,1
21. III. 08	1,9
25. III. 08	1,9
27. III. 08	2,0
28. III. 08	2,1
29. III. 08	2,1

Diese und obengenannte Befunde machen es notwendig, an ersterer Stelle die Bedingungen aufzufinden, bei welchen die Schwankungen der Speichelalkalescenz bis auf ein Minimum zurückgedrängt werden. Bei einer konstanten Diät soll täglich die Speichelalkalescenz bestimmt werden; vielleicht wäre es bei solchem Verfahren möglich, regelmäßige Tagesschwankungen und eine an verschiedenen Tagen gleich große Alkalescenz zu erhalten.

Erst nachdem dieses gelungen ist, kann man zum Vergleich zwischen Zahnverderbnis und Speichelbeschaffenheit kommen.

Vielleicht eröffnet sich auch dann der Weg, um in irgendeiner Weise eine konstant hohe bzw. geringe Speichelalkalescenz hervorzurufen. Alsdann wird es möglich sein, zu bestimmen, ob in einer gewissen Periode von hoher Speichelalkalescenz die Caries geringere Fortschritte macht, als in einer solchen, wo dieselbe einen kleineren Wert aufweist.

3. Der Grad des cariösen Prozesses und dessen Bestimmung.

Bei seinen Versuchskindern bestimmt Röse den Grad des cariösen Prozesses oder, wie der Autor es nennt, die Cariesfrequenz, indem aus der Zahl der gesunden und der erkrankten Zähne der Prozentsatz der letzteren berechnet wird.

In dieser Weise werden Verheerungen, die durch die Caries vielleicht schon vor Jahren angerichtet sind, mit der Speichelzusammensetzung im Untersuchungsmomente in Zusammenhang gebracht, was nur dann erlaubt ist, wenn man sicher wäre, daß der Speichel von heute dem einige Jahre vorher abgeschiedenen in seiner Zusammensetzung ganz gleich wäre; und gerade dieses ist, wie wir oben hervorgehoben haben, nicht zu erwarten.

Aber auch die Eigentümlichkeiten des Cariesprozesses machen es notwendig, einen anderen Weg einzuschlagen.

Haben doch die Zahnärzte die Erfahrung gemacht, daß bei demselben Individuum Perioden von schnellem Fortschreiten und vollkommener Ruhe des Cariesprozesses miteinander abwechseln. Diese Tatsache haben Black[1]) und Johnson[1]) in der Literatur hervorgehoben.

Aus der Zahl der cariösen Zähne darf man also nicht schließen, ob das entsprechende Individuum sich in einer Periode befindet, in welcher die Caries im Fortschreiten begriffen ist. Außerdem darf man in dieser Zahl nicht ein bestimmtes Maß des Cariesprozesses sehen.

Da also alle von Röse erlangten statistischen Daten[2]) unbedingt falsch sind, ist seine Folgerung[3]) nicht begründet.

Bestrebt man sich, einen Zusammenhang zwischen Zahnverderbnis und Speichelbeschaffenheit nachzuweisen, so gilt es, zwei Wege einzuschlagen.

1. Man vergleiche bei einer und derselben Versuchsperson in bestimmten Perioden die Fortschritte des Cariesprozesses mit der Speichelbeschaffenheit.

---

[1]) G. V. Black, Dental Cosmos 1899, 835, sowie C. N. Johnson, Principles and practice of filling teeth, 1906, 31.

[2]) Tabelle S. 716 d. Deutsche Monatsschr. f. Zahnheilkunde 1905.

[3]) l. c. S. 715.

2. Man vergleiche bei verschiedenen Versuchspersonen in einer bestimmten Periode die durch Caries angerichteten Verheerungen mit der Beschaffenheit des Speichels, mit anderen Worten, man untersuche, ob während einer bestimmten Periode bei einer Versuchsperson mit niedriger Speichelalkalescenz die Caries größere Verheerungen als bei einer solchen mit hoher Alkalescenz angerichtet hat.

Es liegt hier aber eine sehr schwierige Frage vor, und viele Maßnahmen sind dazu notwendig. Unseres Erachtens hat man folgende Punkte ins Auge zu fassen:

a) Man soll die Versuchspersonen so wählen, daß so viel wie möglich gleiche Bedingungen vorhanden sind, was die Diät, die Mundpflege und dgl., und was die Verhältnisse im Munde anbelangt. Darf man ja eine Versuchsperson mit regelmäßiger Zahnstellung nicht ohne weiteres mit einer solchen, deren Zähne unregelmäßig gestellt sind, vergleichen. Die unregelmäßige Zahnstellung bildet Retentionsstellen für Speisereste und dadurch Prädilektionsstellen für die Cariesangriffe.

Auch darf man Zähne mit Emaildefekten nicht völlig normalen Zähnen gleichstellen, indem bei den ersteren die Dentine, bei den letzteren das harte Email den schädigenden Momenten ausgesetzt ist.

Man muß weiterhin bei jeder Versuchsperson mit der Größe und der Beschaffenheit der Oberfläche, die der Caries ausgesetzt ist, Rechnung tragen.

b) Man wird vielleicht gut tun, vor der Beobachtung die Bedingungen möglichst gleich zu machen, indem man die cariösen Höhlen auf zahnärztlichem Wege behandelt und ausfüllt.

c) Weiterhin soll eine genaue Beobachtung aller Zähne stattfinden, so daß man von jeder Seite ein genaues Bild der Zähne erhält.

Man soll alle Stellen, wo die Caries sich nur im Anfangsstadium befindet, und die Ausbreitung derselben genau bestimmen.

Diese Beobachtung ist nun eine überaus schwierige Sache, wozu man nebst einem guten Instrumentarium viel Geduld und Ausdauer braucht.

Es dürfte aber nur unter diesen Bedingungen die Lösung der vorliegenden Frage möglich sein.

Untersuchung der normal (ohne Kaffee- und Teegenuß) ausgeschiedenen Purinkörper beim Menschen.

Von

Martin Krüger †.

(Nach hinterlassenen Aufzeichnungen mitgeteilt durch Georg Salomon und Paul Schmidt.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1908.)

Bei einer nachträglichen Sichtung des wissenschaftlichen Nachlasses Martin Krügers haben wir unter obigem Titel Untersuchungen vorgefunden, deren Ergebnis für das von Krüger vornehmlich bearbeitete Kapitel der Herkunft der Purinbasen im Harn nicht ohne Bedeutung ist. Nach Salomon und Krüger[1]) kann der Nachweis, daß die methylierten Xanthine des Harns ihren Ursprung in dem Gehalt der Genußmittel bzw. Nahrungsmittel an Coffein, Theobromin und Theophyllin haben, in zweierlei Weise geführt werden. „Da Homologe des Xanthins bisher nur im Tee und Kaffee gefunden worden sind, so müßten bei Enthaltung von diesen Genußmitteln auch die methylierten Xanthine im Harn verschwinden. Zweitens muß man nach Verfütterung der genannten drei Basen dieselben Xanthinderivate finden, welche im Harn vorkommen.“ Während die zahlreichen Arbeiten Krügers[2]) ausschließlich der letzteren Richtung folgen, zeigt die folgende Mitteilung, daß er auch den ersteren Weg zu beschreiten nicht unterlassen hat. Es bot sich ihm nämlich Gelegen-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 379; vgl. dazu Bodzyński, Gottlieb, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 1113. — Albanese, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2280.

[2]) Vgl. Nachruf für M. Krüger, Ber. d Deutsch. chem. Ges. 37, 4824.

heit, den Harn eines Patienten zu untersuchen, der sich des Genusses von Tee und Kaffee vollständig enthielt. Das Ergebnis der Untersuchung entsprach vollkommen den Erwartungen. Es fehlten die drei aus dem menschlichen Harn bekannten Methylderivate des Xanthins: 1-Methylxanthin, Heteroxanthin und Paraxanthin.[1])

Ferner fehlte, wie in den früheren Untersuchungen von Salomon und Krüger[2]), das Guanin. Gefunden wurden nur Xanthin, Adenin und Epiguanin. Das Fehlen des Hypoxanthins erklärt sich ungezwungen aus dem weniger eingreifenden Charakter des neuen Isolierungsverfahrens, das eine Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin bei der Aufarbeitung des ursprünglichen Basengemisches ausschließt.

Der 15jährige Patient Fr. Fr., an Muskelatrophie leidend, 40 kg schwer, erhielt während seines Aufenthaltes in Breslau während einer längeren Versuchszeit sowie bereits einige Tage vor Beginn des Versuchs weder Kaffee, noch Tee, noch überhaupt ein Genußmittel, das methylierte Xanthinbasen enthielt. In der täglichen Harnmenge wurden die Basen mittels Kupfersulfat und Natriumbisulfit gefällt, und die Niederschläge gesammelt. Nach Ablauf der Versuchsperiode wurden sie nach dem von Salomon und Krüger[3]) angegebenen Verfahren aufgearbeitet. Sie wurden mit Natriumsulfid zersetzt, und das Filtrat vom Schwefelkupfer nach dem Ansäuern mit Salzsäure eingeengt, wobei sich die Harnsäure abschied. Dieselbe wurde abfiltriert und der im Filtrat noch gelöste Rest dieser Säure durch Braunstein oxydiert. In der vom überschüssigen Braunstein abfiltrierten Lösung wurden die Basen wiederum durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit gefällt. Der Kupferniederschlag wurde gut ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff in Gegenwart von Salzsäure zersetzt. Die vom Schwefelkupfer abfiltrierte Lösung wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand zur Entfernung der Salzsäure mehrere Male mit Alkohol eingedampft und darauf mit Wasser bei 40°

---

[1]) Das Paraxanthin hat Krüger in seinen Notizen allerdings nicht erwähnt, aber auf Befragen dem einen von uns (Salomon) mündlich bestätigt, daß er diese Base nicht habe nachweisen können.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 364; 26, 350.

[3]) l. c.

digeriert. Die hierbei erhaltene Lösung A wurde von dem ungelöst bleibenden Anteil B durch Filtration getrennt.

Aus der Lösung A wurde durch Ammoniak ein Niederschlag erhalten, der zweimal mit heißem Wasser extrahiert wurde. Aus der wässerigen Lösung schied sich das Epiguanin (0,146 g) aus. Zu seiner Identifizierung wurde es in das Pikrat übergeführt. Letzteres ließ sich aus einer heißen, ca. 1%igen Pikrinsäurelösung umkrystallisieren und wurde beim Erkalten in dicken Prismen, welche zum Teil charakteristisch gebogen waren,[1]) oder bei schnellem Erkalten in sechsseitigen Blättchen erhalten. Sein Zersetsungspunkt lag, entsprechend dem Pikrat aus synthetischem Epiguanin, bei 254°. Das Filtrat vom Epiguanin hinterließ noch einen ziemlich beträchtlichen Rückstand, der in heißem Wasser und in Ammoniak löslich war, sich aus ammoniakalischer Lösung in Krystallbüscheln abschied und mit 10%iger Salpetersäure ein Nitrat (Xanthiumnitrat) lieferte. Der in heißem Wasser unlösliche Anteil des aus der Lösung A durch Ammoniak erhaltenen Niederschlages (s. o.) wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung mit Essigsäure angesäuert. Die hierbei entstehende Fällung, welche das Guanin enthalten müßte, wurde abfiltriert, gewaschen und in verdünnter Salzsäure gelöst. Die Lösung wurde zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit Pikrinsäure in wenig Wasser behandelt. In dem hierbei erhaltenen Niederschlage waren aber die charakteristischen Nadeln des Guaninpikrates nicht vorhanden. Unter den Basen war demnach kein Guanin enthalten.

Die ammoniakalischen Mutterlaugen des Epiguanins usw. wurden durch Kochen vom Ammoniak befreit und nach dem Filtrieren in Portionen von je 10 ccm mit einer 1%igen Pikrinsäurelösung versetzt. Es schied sich das Adeninpikrat (0,483 g) aus, das sich bei 273° zersetzte. In dem Filtrate des Adeninpikrates wurden nach Entfernung der Pikrinsäure die restierenden Basen durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit gefällt, und die bei der Zerlegung des Kupferniederschlages mittels Schwefelwasserstoff gewonnene Lösung zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde in 10%iger Salpetersäure gelöst. Aus der Lösung schied sich ein geringer Niederschlag aus, der aus

---

[1]) Krüger u. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 392.

Xanthinnitrat bestand. Die wetzsteinförmigen Krystalle des Hypoxanthinnitrats wurden nicht beobachtet.

Der in Wasser unlösliche Anteil der Basen (B) wurde in wässerigem Ammoniak gelöst, die Lösung filtriert, mittels Ferrosulfat und Ammoniak entfärbt und zur Trockne verdampft. Der Abdampfrückstand wurde in wenig Natronlauge gelöst. Es schied sich kein Heteroxanthinnatrium ab. Die Lösung wurde darauf mit konzentrierter Salpetersäure im Überschuß versetzt. Nach kurzer Zeit krystallisierte das Xanthinnitrat in reichlicher Menge aus. Es wurde abfiltriert, mit den bereits früher erhaltenen Mengen vereinigt, mit 10%iger Salpetersäure und dann mit Alkohol und Äther gewaschen. Aus dem Nitrat wurde das Xanthin (0,543 g) durch Lösen in Ammoniak, Eindampfen der Lösung und Waschen mit kaltem Wasser gewonnen.

Analyse.

0,1372 g Substanz, bei 130° getrocknet, verbrauchten 35,95 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Xanthin. N: ber. 36,84%, gef. 36,68%.

In den Mutterlaugen des Xanthinnitrates ließ sich neben weiteren Mengen dieser Base nur noch Adenin nachweisen.

Der Einfluß des Thyreoidins, Spermins und Adrenalins sowie der Entfernung der Schilddrüse und der Testikeln auf die Oxydationsprozesse, den Atmungsgasaustausch und die Giftigkeit des Harns bei Tieren.

Von

A. J. Juschtschenko.

(Aus dem chem. Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 4. November 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Bei der Untersuchung der Oxydationsprozesse und der Giftigkeit des Harns von Geisteskranken muß man sich gewöhnlich mit der Feststellung einer Zunahme resp. Abnahme dieser Erscheinungen begnügen; eine eingehende Erforschung dieser Prozesse am kranken Menschen ist gegenwärtig kaum ausführbar. Nun ist es aber notwendig, tiefer in das Wesen jener Veränderungen des Stoffwechsels, die im Organismus von Geisteskranken stattfinden und deren äußeres Symptom unter anderen auch die psychische Störung darstellt, einzudringen. Um den Untersuchungskreis nun zu erweitern und der Erforschung dieser Prozesse näher zu treten, muß man unbedingt die gleichen oder wenigstens ähnliche Veränderungen des Stoffwechsels, wie die bei Menschen gefundenen, experimentell an Tieren hervorzurufen suchen und sich daher nach Möglichkeit solcher Agenzien bedienen, die nach unseren jetzigen Anschauungen die hauptsächlichsten Kausalbedingungen der Störungen des Stoffwechsels beim geisteskranken Menschen ausmachen. Schon die alltäglichen klinischen Beobachtungen liefern genügend Anhaltspunkte, um von einem Zusammenhang einiger Formen von Geisteskrankheiten sowie Degenerationen mit den Funktionsstörungen der sogenannten geschlossenen Drüsen, wie z. B. der Schilddrüse,

der Geschlechtsdrüse usw., reden zu können. Es genügt, hier auf die Katatonie [Lundborg (1)], einige Psychosen des Jünglings- und des Greisenalters, die Psychosen bei der Basedowschen Krankheit, den Kretinismus, Infantilismus usw. hinzuweisen. Zu erwähnen wäre noch die Arbeit von E. Hertoghe (2), welcher sagt, daß die schweren Formen der Funktionsstörung der Schilddrüse allen wohl bekannt sind, während die leichteren Formen nur äußerst wenig erforscht sind. In seiner Arbeit schildert der Autor gerade diese leichten Formen, beschreibt ihre Ätiologie, das klinische Bild der Anfälle, den Verlauf der Krankheit und die erfolgreiche Behandlung mit Thyreoidin. Zu den Anfällen einer leichteren Form von Infantilismus, welcher von Funktionsstörungen der Schilddrüse herrührt, rechnet Hertoghe unter anderen nächtliche Inkontinenz, einige Formen des Schielens, Neigung zu Schnupfen, Ohrensausen, Kopfschmerzen, quakende Stimme, Retroflexi outeri, einige Störungen des peripherischen Gefäßsystemes, Schläfrigkeit, Trägheit usw. In der Tat führen Störungen der Funktionen der sogenannten offenen Drüsen, wie z. B. der Drüsen des Darmkanals abgesehen von einer anomalen Verdauung zu vielen mehr oder weniger schweren allgemeinen Erkrankungen und rufen unter anderem tiefgreifende Veränderungen des Stoffwechsels — Vergiftungserscheinungen, die zuweilen von Geistesstörungen begleitet sind — hervor. Nicht minder schwere und komplizierte Erscheinungen, Autointoxikationen, Kachexien usw. müssen auch bei Erkrankungen der sogenannten geschlossenen Drüsen auftreten. Die Funktion letzterer ist freilich noch dunkel; doch häufen sich in der letzten Zeit immer mehr und mehr Tatsachen an, die darauf hinweisen, daß gerade diese Drüsen eine hervorragende Rolle spielen, indem sie die für die verwickelten Prozesse des Zellenstoffwechsels notwendigen Erreger, die sogenannten Enzyme oder Katalysatoren, liefern.

Um nun im Hinblick auf das Gesagte, wenn auch nur teilweise, imstande zu sein, sich in der Summe der komplizierten Erscheinungen psychischer Störungen zurechtzufinden, mußte vorerst der Zusammenhang zwischen den Lebensprozessen ersten Ranges einerseits und den Funktionen der erwähnten Drüsen sowie der Wirkung ihres tätigen Prinzips anderseits aufgeklärt werden. Von Frau N. O. Sieber-Schumoff durch

Rat und Tat wirksam unterstützt, unternahm ich es zunächst, die Frage nach der Wechselbeziehung der Funktionen geschlossener Drüsen und der Wirkung ihres tätigen Prinzips sowie der Wirkung einer totalen oder teilweisen Entfernung dieser Drüsen auf den Atmungsprozeß und die physiologische Oxydation zu entscheiden. Im Zusammenhang hiermit berührte ich gelegentlich auch die mich interessierende Frage nach der Toxizität des Harns bei diesen Störungen.

Da die weitaus größte Anzahl von Tatsachen auf einen Zusammenhang von geistigen Erkrankungen und Degenerationen mit Funktionsstörungen der Schilddrüse hinweist, so will ich zunächst die Experimente anführen, welche die Untersuchung der Oxydationsprozesse und der Harngiftigkeit nach Vergiftung mit Thyreoidin oder nach Entfernung der Schilddrüse betreffen. Weiter sollen die Untersuchungen über diejenigen Störungen, welche durch die Wirkung von Sperminum (Poehl) hervorgerufen werden und nach Entfernung der Testikeln auftreten, folgen. Schließlich führe ich einige Vergiftungsversuche mit Adrenalin an; was hingegen den Einfluß der Entfernung der Nebennieren anbelangt, so sind die diesbezüglichen Untersuchungen noch nicht abgeschlossen.

Zu den Versuchen wurden ausschließlich Kaninchen, hauptsächlich Männchen von verschiedenem Alter und Gewicht verwendet. Vor Beginn des Versuches waren sie alle gut ernährt und fraßen hauptsächlich Hafer und Beeten. Während des Versuches erhielten sie anfangs gleichfalls Wasser, Hafer und Beeten. Als aber die Versuche mit Injektion von Harn in die Venen begonnen wurden, und es sich herausstellte, daß der Harn der mit Beeten gefütterten Kaninchen dick und viscös war, und daß deshalb seine Injektion auf Schwierigkeiten stieß, wurden die Beeten durch Mohrrüben ersetzt. Während der Versuchsdauer wurden die Kaninchen in speziellen Käfigen mit doppeltem, nach dem Zentrum etwas geneigtem Metallboden, in dessen Mitte sich eine Öffnung befand, gehalten. Auf dem oberen Teil des Doppelbodens, der mit zahlreichen kleinen Öffnungen versehen war, blieben Exkremente, Haare und Speisereste zurück, während der Harn auf den unteren Boden und von hier in ein untergestelltes Glasgefäß abfloß. Um nach Verlauf der für den Versuch nötigen Zeit möglichst die ganze

Harnmenge zu erhalten, wurde der Boden mit destilliertem Wasser abgespült, das dann mit den Harnresten zusammen gleichfalls in das Gefäß abfloß.

Zur Untersuchung der Oxydationsprozesse benutzte ich die vom verstorbenen Prof. M. W. Nencki in Gemeinschaft mit Frau N. O. Sieber-Schumoff ausgearbeitete Methode, die, wie bekannt, darauf begründet ist, daß dem Organismus einverleibtes Benzol — C_6H_6 — durch Einwirkung des aktiven atomistischen Sauerstoffs der Gewebe zu Phenol — $C_6H_5 \cdot OH$ — oxydiert wird. Ohne an dieser Stelle auf eine genauere Beschreibung dieser Methode einzugehen, verweise ich auf die Originalarbeit (3). Das Benzol wurde den Kaninchen in einer Menge von 1 g subcutan appliziert. An der Einführungsstelle bildeten sich manchmal Verhärtungen, leider sogar in einem Falle Eiterinfiltrationen. Das im Harn ausgeschiedene, an Schwefel- oder Glukuronsäure gebundene Phenol wurde durch Destillation des mit HCl angesäuerten Harns gewonnen. In dem Destillat wurde es in Form von krystallinischem Tribromphenol ausgefällt und dann gewichtsanalytisch oder durch Titration bestimmt.

Alle quantitativen Bestimmungen des im Harn ausgeschiedienen Phenols, die im Laufe des Jahres 1907 gemacht worden waren, wurden durch Titration nach der von C. Neuberg[1]) modifizierten Methode von Koßler und Penny, resp. Koppeschaar-Beckurts ausgeführt. Ich will hier nicht auf die Beschreibung des Prinzips und der Technik dieser Methode eingehen, da sich eine ausführliche Besprechung in der vor kurzem erschienenen Arbeit meines Kollegen Herrn Stanischewski, der gleichfalls nach derselben Methode gearbeitet hat, gegeben worden ist. Die Titration des Phenols nach dieser Methode ergibt gute Resultate und erfordert einen unvergleichlich geringeren Zeitaufwand als die gewichtsanalytische Bestimmung.

Um außerdem bei der Beurteilung der Energie der Oxydationsprozesse im Organismus einen Vergleich zu haben, bediente ich mich des Koeffizienten von Poehl-Robin, der das Verhältnis des Harnstoffstickstoffes zu dem Gesamtstickstoffe des Harns ausdrückt, wobei der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl,

[1]) C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 123, 1899.

der Stickstoff des Harnstoffes nach A. P. Borodin bestimmt wurde.

Über die Bedeutung der Methode von M. W. Nencki und N. O. Sieber-Schumoff sollen die eigenen Worte der Autoren Aufschluß geben:

„Allerdings sind wir nicht der Meinung, daß sie die bisherigen Methoden, so namentlich die Untersuchung des respiratorischen Gaswechsels, ersetzen soll. Wir wiederholen, unsere Methode ist nur eine Ergänzung der bisherigen, indem sie von anderer Seite aus den Einblick in die Vorgänge des Zellebens ermöglicht."

Nach der Anschauung von M. W. Nencki und N. O. Sieber-Schumoff wird das Benzol im Organismus durch atomistischen Sauerstoff oxydiert, welcher sich durch Einwirkung des labilen, stark reduzierenden Eiweißmoleküls oder bei Oxydation von Verbindungen, die bei Körpertemperatur in Gegenwart von neutralem atmosphärischem Sauerstoff oxydierbar sind, bildet. In den letzten Jahren haben sich unsere Kenntnisse von dem Wesen der Oxydation der Gewebe um vieles erweitert; jedoch erhält die Idee von dem labilen Eiweiß dadurch nur eine andere Deutung, und M. W. Nencki sagt in seiner bekannten Rede, die er im Jahre 1900 in der Versammlung des Naturforscher- und Ärzte-Vereins zu Krakau gehalten hat: „Soweit wir die Enzyme näher kennen gelernt haben, sind wir im Recht zu behaupten, daß sie zu den Eiweißkörpern mit labilem Molekül gehören; es wäre aber voreilig, zu behaupten, daß alle Enzyme Eiweißkörper sind."

Gegenwärtig bildet die Lehre von der Teilnahme der Enzyme am Zellstoffwechsel eine der interessantesten Fragen der Chemie und Biologie; es ist eine Reihe von Enzymen bekannt, die speziell den Sauerstoff aktivieren und die Oxydationsprozesse fördern, aus welchem Grunde sie auch als Oxydationsfermente oder Oxydasen bezeichnet werden. Ich will hier nicht die Literatur über Oxydationsenzyme anführen und verweise auf die entsprechenden Kapitel der Werke von Hammersten (6), Slowtzow (7), Sieber-Schumoff (8) und Danilow (9) usw. Es existieren mehrere Hypothesen, welche das Wesen der Wirkung der Oxydationsfermente zu erklären versuchen; jedoch bleibt die Frage noch offen, ob sie direkt an der Bildung von

atomistischem Sauerstoff teilnehmen, oder ob letzterer infolge verschiedenartiger, innerhalb der Gewebe verlaufender chemischer Reaktionen und Prozesse auftritt. Gegenwärtig ist bekannt, daß, außer den überhaupt oxydierend wirkenden Fermenten, noch spezifisch wirkende Oxydasen existieren, welche speziell die eine oder die andere Verbindung oxydieren, wie z. B. die Tyrosinase, Guanase, Adenase u. a. Hypothetisch könnte man annehmen, daß auch das Benzol im Organismus durch eine spezielle Oxydase oxydiert wird; in diesem Falle hätte die Verstärkung oder Abschwächung der Oxydation des Benzols im Organismus keine allgemeine, sondern nur eine spezielle Bedeutung. Allein die Existenz derartiger Oxydasen ist überhaupt noch nicht bewiesen; im Gegenteil widersprechen die in dieser Richtung gemachten Beobachtungen einer solchen Voraussetzung, und infolgedessen ist auch keinerlei Grund vorhanden, die allgemein geltende Ansicht zu verwerfen, daß das Benzol überall in den Geweben oxydiert wird, wo aktiver atomistischer Sauerstoff vorhanden ist, weshalb die Quantität des oxydierten Benzols als Maß der Oxydationsprozesse überhaupt dienen kann. Jedoch wird nicht das gesammte einverleibte Benzol in Form von Phenol durch den Harn ausgeschieden; ein Teil verläßt den Organismus durch die Atmungswege; ein anderer Teil wird in Form von Hydrochinon und Brenzkatechin iliminiert. Die Menge des oxydierten Phenols ist, wie durch frühere Versuche festgestellt und durch spätere bestätigt wurde, bei den einzelnen Tierarten eine verschiedene und ist von der Individualität derselben und mehreren anderen Umständen abhängig. Deshalb geben nur wiederholte parallele Untersuchungen der Oxydation des Benzols im normalen und krankhaften Zustande ein und desselben Individuums die Möglichkeit, bestimmte Schlüsse zu ziehen.

Bei meinen Untersuchungen vergewisserte ich mich vor Beginn jedes Versuches, daß kein Phenol im Harn des Kaninchens enthalten ist, bestimmte darauf die Oxydation des Benzols im normalen Zustande des Tieres, rief dann durch entsprechende Eingriffe die erwünschten Störungen hervor und untersuchte in diesem Zustande die Oxydation des Benzols.

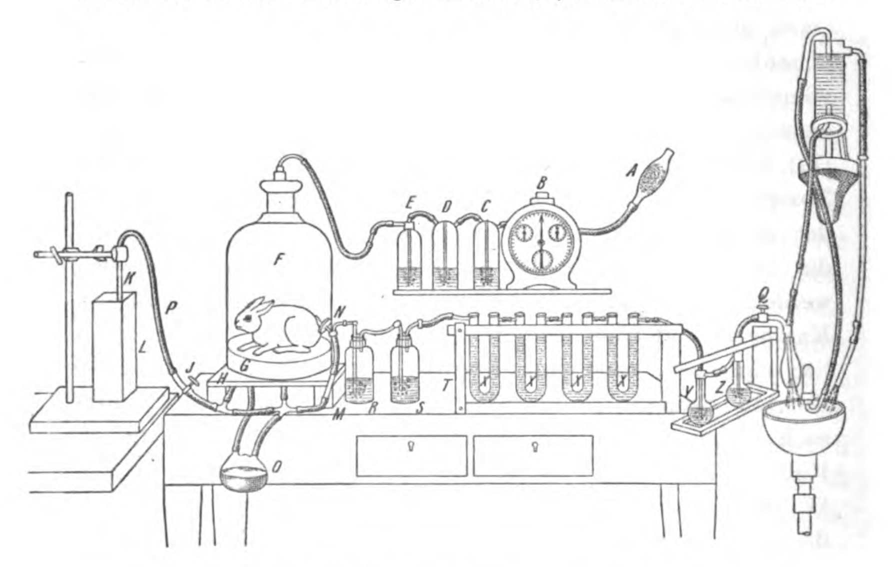
Zwecks Untersuchung der Harntoxizität ließ ich gewöhnlich nach ein- oder zweimal 24 Stunden dem Versuchskaninchen

mit dem Katheter den Harn ab und vereinigte ihn, wenn das Kaninchen im Laufe dieser Zeit Harn gelassen hatte, mit der im Glasgefäß gesammelten Menge. Der Harn war gewöhnlich dick und mußte deshalb bis zum spez. Gew. 1011 bis 1013 mit Wasser verdünnt werden; hierauf wurde die Flüssigkeit zur Entfernung von Verunreinigungen durch Glaswolle filtriert. Ein Teil der Flüssigkeit wurde zur Bestimmung des Gefrierpunktes verwendet, während das übrige in einen graduierten Glaszylinder gebracht und von hier aus unter Einhaltung der entsprechenden Vorsichtsmaßregeln einem Kaninchen in die Marginalvene des Ohres gespritzt wurde. Ebenso wie in meiner vorigen Arbeit [Juschtschenko (10)], wo ich eingehend die Methodik der Bestimmung der Harngiftigkeit beschrieben habe, wurde die aktuelle Toxizität nach der Tabelle von Claud und Baltazard (11) berechnet, wobei die Urotoxie (*Ut*), d. h. die Zahl der Toxien in der Tagesmenge des Harns des Versuchstieres, und der urotoxische Koeffizient (*KU*), d. h. die Zahl der Toxien, die im Laufe von 24 Stunden von 1 Kilo Tier ausgeschieden werden, bestimmt wurde. Der Atmungsstoffwechsel wurde an Kaninchen mit Hilfe eines besonders hierzu hergestellten, ziemlich einfachen, nach dem Begnoult und Beiset aber modifizierten Respirationsapparates untersucht. Die meisten Versuche über den Atmungsstoffwechsel werden bei uns in Rußland mit Hilfe des bekannten Respirationsapparates von W. W. Paschutin ausgeführt. Der Respirationsapparat, dessen ich mich bediente, bestand aus einer Glaskammer, in welcher sich das Versuchstier befand, und einer Reihe von Absorptionsgefäßen.

Als Kammer diente eine Glasglocke, die auf einer Glasplatte (*K*) stand; in letzterer befanden sich drei Öffnungen, in welchen drei Glasröhren befestigt wurden; auf diese waren Gummischläuche gezogen, die sich zu einem gemeinsamen Abzugsrohr (*M*) vereinigten. Auf der Glasplatte wurde ein Blechuntersatz (*G*) (auf Füßen) befestigt; in der Mitte desselben befand sich eine Abflußöffnung, die gerade über der mittleren Öffnung der Glasplatte lag. An der Unterlage wurden zwei Futterkästchen für Wasser und Hafer befestigt. Unter der Blechunterlage, zwischen den Füßen derselben, wurden drei Glasgefäße mit Chlorkalk zur Absorption des Wassers gestellt.

Das Kaninchen wurde auf die Unterlage gesetzt und mit einer großen Glasglocke (*F*) bedeckt; der Rand derselben wurde mit einer dicken Vaselinschicht bedeckt und schloß sich hermetisch der Glasplatte an.

Die obere Öffnung der Glocke wurde mittels eines Kautschukschlauches mit den Kolben *E*, *D* und *C* verbunden (in *E* befand sich konzentrierte Schwefelsäure, in *D* und *C* Barytwasser). Weiter folgte die Wasseruhr (*B*) und eine mit Natronkalk gefüllte Röhre (*A*). Die mittlere Öffnung der Glasplatte stand mit einem zweihalsigen Kolben (*O*), der zum Ansammeln



von Harn und Wasserdämpfen diente, in Verbindung. Das andere aus der Glocke führende Rohr war geteilt, wobei der eine Zweig vermittels des Hahnes *J* und des Kautschukschlauches *P* mit der Glasröhre *K* verbunden war, dessen unteres Ende, zwecks periodischer Entnahme von Luftproben aus der Glocke, in das Quecksilberbad *L* tauchte. Der andere Zweig kommunizierte mit dem dritten Abzugsrohr und dem zweiten Halse des zur Harnaufnahme dienenden Kolbens. Somit vereinigten sich alle drei aus der Glocke führenden Rohre zu einem einzigen *M*, welches mit zwei Glasgefäßen (*R* und *S*) verbunden war, wobei von diesen Gefäßen noch der Hahn *N* eingeschaltet war. *R* und *S* waren mit konzentrierter Schwefel-

säure, zur Absorption der Feuchtigkeit der ausströmenden Luft, beschickt. Weiter folgten gewöhnlich vier bis fünf, zuweilen auch sechs mit Natronkalk gefüllte U-Rohre (X—X—X—X). An diese schlossen sich endlich zwei entsprechende, mit Barytwasser gefüllte Kolben an. Das Durchsaugen der Luft durch den Apparat wurde durch eine Wasserpumpe bewerkstelligt, wobei der Druck durch eine einfache, nach der Zeichnung verständlichen Vorrichtung zur Regulierung des Niveaus der Flüssigkeit immer auf der gleichen Höhe gehalten wurde.[1])

Um den Registrationsapparat in Tätigkeit zu bringen, wurde die Wasserpumpe in Gang gesetzt und darauf zuerst der Hahn Q, und dann der Hahn N geöffnet, wobei die Steigerung der Quecksilbersäule in der Röhre K, nach Öffnung des Hahnes J, den Grad der Luftverdünnung in der Glocke anzeigte. Die Außenluft passierte die Röhre A, die die Kohlensäure absorbierte, wurde darauf von der Uhr registriert, in den Gefäßen C und D endgültig von CO_2 und im Gefäß E von Wasserdämpfen befreit, und gelangte danach unter die Glocke, wo sie als kältere nach unten sank. Aus der Glocke gelangte die „verbrauchte" Luft durch die drei Röhren, die sich zu dem einzigen Abzugsrohr M vereinigten, in die Gefäße R und S, wo die Wasserdämpfe zurückgehalten wurden; von hier trat die Luft in die mit Natronkalk gefüllten U-Rohre X, in denen sämtliche vom Kaninchen ausgeschiedene CO_2 absorbiert wurde, passierte hierauf die Kontrollkolben Y und Z und entwich dann nach außen. Zur periodischen Untersuchung der Zusammensetzung der Luft unter der Glocke diente der Hahn J. Nach Öffnung desselben gelangte die Luft aus der Glocke in die Röhre K. Mit dieser Röhre wurde in der Quecksilberwanne das Ende einer Hempelschen Bürette in Verbindung gebracht; die Bürette wurde zweimal gefüllt und entleert, und erst die zum drittenmal entnommene Probe diente zur Untersuchung der Luft. Aus der Bürette wurde eine gewisse Menge der Luft in ein graduiertes Eudiometer

[1]) Tätigen Anteil an der Konstruktion dieses Apparates nahm außer Frau Sieber-Schumoff auch der Assistent des Laboratoriums Herr W. S. Dzerzgowski, dem ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank ausspreche.

gebracht, wo die CO_2 durch Kalilauge und der O_2 durch alkalische Pyrogallollösung absorbiert wurde.

Der beschriebene Respirationsapparat hatte, trotz mancher Vorzüge, auch seine Nachteile. Zunächst war der Rauminhalt der verwendeten Glocke verhältnismäßig klein und betrug im ganzen nur 24,5 l, auf 760 mm Barometerdruck und 0^0 reduziert sogar nur 22,5 bis 23,5 l.

Weiter war die Geschwindigkeit des Luftstromes nur eine geringe (übrigens gelang es später den Strom zu verstärken). Die Analyse der Luft aus der Glocke zeigte einen Gehalt von 3 bis 6 % CO_2 an, zuweilen sogar noch mehr, wenn das Kaninchen groß war und frequent atmete. Ungeachtet der angedeuteten Mängel kann der von mir benutzte Respirationsapparat dennoch als den gestellten Anforderungen entsprechend bezeichnet werden, da ja alle Untersuchungen unter gleichen Bedingungen ausgeführt wurden und folglich der eventuelle Fehler überall der gleiche war, ferner aber nach Untersuchungen von P. M. Albitzki (12) bekannt ist, daß sich bei Tieren erst dann eine toxische Wirkung der CO_2 bemerkbar macht, wenn der Kohlensäuregehalt der Luft 10 % übersteigt.

Die Kaninchen verweilten immer rund 24 Stunden im Apparat, wobei sie essen, trinken und sich bewegen konnten. Die Luftmenge, die den Apparat durchströmt hatte, wurde durch die Uhr registriert; die Quantitäten der vom Natronkalk absorbierten CO_2 wurde aus der Gewichtsdifferenz der Röhren vor und nach dem Versuch bestimmt; zu dieser Menge wurde zur Bestimmung der gesamten vom Tier ausgeschiedenen CO_2 noch die beim Abschluß des Versuches in der Glocke zurückbleibende CO_2 hinzugerechnet.

Die Menge des vom Tiere verbrauchten O_2 wurde folgendermaßen berechnet: während der Dauer des Versuches wurde gewöhnlich dreimal Luft aus der Glocke genommen und der mittlere Gehalt an O_2 und CO_2 in Prozenten bestimmt; weiter wurde die Sauerstoffmenge der durch den Apparat gesogenen Luft und die Menge des in der Glocke zurückgebliebenen O_2 berechnet. Die Differenz zeigte die vom Tier verbrauchte Sauerstoffmenge an. Die CO_2-Menge wurde genau bestimmt; was jedoch die Sauerstoffmenge anbetrifft, so sind hier Fehler möglich, besonders in den Fällen, wo das Versuchstier durch

irgendeine Substanz vergiftet worden war. Streng genommen mußte die Luft in der Glocke eigentlich in zweistündigen Zwischenräumen untersucht werden. Richtige Zahlen erhält man auch bei sechsmaliger Analyse der Luft. In meinen Versuchen wurden, wie gesagt, täglich gewöhnlich drei Analysen vorgenommen; 2 bis 3 Stunden nach Beginn des Versuches; in der Mitte und beim Abbruch des Versuches. Zuweilen wurde die Luft viermal, zuweilen jedoch nur zweimal untersucht. Ich sah mich aber gezwungen, einen Teil der Versuche mit zweimaliger Analyse der Luft auszuschließen, da ich befürchten mußte, daß die hierbei erhaltenen mittleren Zahlen nicht genau wären. Der Atmungskoeffizient wurde nach folgendem Schema berechnet:

$$\frac{CO_2}{O} = \frac{(M - E) + T}{(A + B) - (C + D)},$$

wobei M die Menge der in den U-Röhren bestimmten CO_2, E die CO_2 in der Glocke beim Beginn des Versuches und T am Schluß des Versuches bezeichnet; A bezeichnet den Sauerstoffgehalt der durch den Apparat gesogenen Luft, B den O_2, der sich beim Beginn des Versuches in der Glocke befand, C den vom Tiere nicht absorbierten O_2 und D den nach Abschluß des Versuches in der Glocke zurückbleibenden O_2.

Als Beispiel führe ich die Berechnung eines Versuches an. Das Kaninchen Nr. 9, ein graues Männchen, wurde am 2./III. 1907 in den Apparat gesetzt; Gew. 900 g; Temp. um 2 Uhr nachmittags 39,1°. Nach 24 Stunden wurde das Tier herausgenommen; Gew. 920 g; Temp. 39,2°. Die Uhr hatten 418 l Luft passiert; Inhalt der Glocke 24,5 l. Mittlere Tagestemperatur des Zimmers 13° C und mittlerer Barometerdruck 763. Vom Natronkalk absorbierte CO_2 31,57 g. Gehalt der Zimmerluft in Prozent an $O_2 = 20{,}6\,\%$, an $CO_2 = 0{,}03\,\%$. Die Analyse der Luft aus der Glocke ergab folgende Zahlen:

1. 15,4 — CO_2 = 14,9 — O_2 = 12,4 (Druck 761 mm; Temp. 13,6°). 2. 18,7 — 17,9 — 14,8 (761 mm; 13,4°). 3. 17,5 — 16,8 — 13,9 (761 mm; 13,4°). Rechnen wir alle Luftvolumina nach der Tabelle von A. Baumann auf 0° und 760 mm Druck um, so finden wir, daß der Inhalt der Glocke 23,1 l betrug; Durch die Uhr waren 391 l Luft gesogen worden.

Luft in der Glocke: 1. 16,441 — 15,784 — 13,059. 2. 17,563 — 16,817 — 13,904. 3. 16,441 — 15,784 — 13,059. In Prozenten berechnet: 1. $CO_2 = 3,93$; $O_2 = 16,2$. 2. 4,24 — 16,5. 3. 4 — 16,5. Im Mittel $CO_2 = 4,06\%$; $O_2 = 16,4\%$; M = 31,57 g.

$E = 0,03 \times 23 \times 0,00197$ (Gewicht eines Kubikzentimeters CO_2) = 0,013 g. $T = 40,6 \times 23 \times 0,00197 = 1,81$ g. $A = 206$ $391 \times 0,00143$ (Gewicht eines Kubikzentimeters O_2) = 115,18 g. $B = 206 \times 23 \times 0,00143 = 6,77$ g. $C = 164 \times 391 \times 0,00143 = 91,7$ g. $D = 165 \times 23 \times 0,00143 = 5,43$ g.

$$\frac{CO_2}{O_2} = \frac{31,57 - 0,013 + 181}{(115,18 + 6,77) - (91,7 + 5,43)} = \frac{33,37}{24,82} = 1,37.$$

Ein solches Verhältnis erhalten wir bei der Berechnung in Gewichtswerten. Bei der gewöhnlichen auszuführenden Berechnung dem Volumen nach erhalten wir $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{16,94}{17,14} = 0,98$. Nehmen wir als mittleres Tagesgewicht des Kaninchens 910 g an, so finden wir, daß der Gaswechsel auf 1 kg Kaninchen $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{18,61}{18,83} = 0,98$ betrug.

Die Berechnung von CO_2 und O_2 wurde in allen Versuchen auf die oben beschriebene Weise ausgeführt.

Der Einfluß des Thyreoidins und der Entfernung der Schilddrüse.

Die Literatur über die Funktionen der Schilddrüse und besonders über die Anwendung von Thyreoidinpräparaten als Heilmittel bei verschiedenen Erkrankungen ist ungeheuer groß; hier will ich speziell nur auf einige Arbeiten und vor allem auf diejenigen hinweisen, die in irgendwelcher Beziehung zu meinen eigenen Beobachtungen stehen.

Bis zur zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts legten die Forscher mit wenigen Ausnahmen der Schilddrüse keine wesentliche Bedeutung bei und einige verwechselten sie sogar mit den Lymphdrüsen. Erst in der zweiten Hälfte des verflossenen Jahrhunderts erschien eine Reihe von Untersuchungen, die auf die wichtige Bedeutung dieser Drüse hinwiesen [J. Simon,

W. Owen, W. Müller u. a. (36)]. Die Erforschung der Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Schilddrüse zeigte, daß außer der Hauptdrüse noch sog. Nebendrüsen, die Glandulae parathyreoideae, existieren. Die Lage der letzteren Drüsen ist bei den verschiedenen Tierarten eine verschiedene. So besitzt das Kaninchen nach den Untersuchungen von Gley (14), die von anderen Beobachtern bestätigt wurden, zwei Paar Nebendrüsen, von denen das eine Paar sich in der die Hauptdrüse umschließenden Kapsel befindet und als das innere Paar bezeichnet wird; bei der Exstirpation der Hauptdrüsen werden somit auch die inneren Parathyreoiden entfernt; das zweite Paar liegt außerhalb der Kapsel. Durch eingehende Untersuchung der Lage der Nebenschilddrüsen wurde auch die Frage aufgeklärt, warum bei Hunden nach Exstirpation der Schilddrüse ziemlich schnell Tetanie zum Vorschein kommt, während sie bei Kaninchen, Schafen und anderen Pflanzenfressern verhältnismäßig selten auftritt.

Bei der Exstirpation der Schilddrüse werden bei Hunden zusammen mit dieser auch die Glandulae parathyreoideae entfernt, bei den Kaninchen hingegen wird bei dieser Operation gewöhnlich nur das innere Paar der Nebenschilddrüsen entfernt, während das äußere Paar zurückbleibt. Die überwiegende Mehrzahl aller Naturforscher und Ärzte betrachtet die Schilddrüse als ein wichtiges und für das Leben unentbehrliches Organ; andere hingegen, mit Munc (15) an der Spitze, behaupten, daß die Drüse im Organismus keine wesentliche Rolle spielt. Ohne Zweifel sind aber Munc und seine Anhänger im Unrecht, und gegenwärtig muß die wichtige Bedeutung der Schilddrüse selbst wie auch der Nebendrüsen als vollkommen bewiesen anerkannt werden. Die Eigentümlichkeiten der Funktionen beider Drüsen sind noch nicht völlig aufgeklärt, besonders herrschen bezüglich der Rolle der Glandulae parathyreoideae verschiedene Ansichten. Einige Autoren betrachten sie als Ergänzungsdrüsen, die die Funktion der Hauptdrüse zu ersetzen imstande sind. Gley (14), Edmunds (16) u. a. vermuten, daß die Glandulae parathyreoideae zur Ernährung der Hauptdrüse dienen; Moussu (17), Vassale und Generali (18) hingegen sagen, daß die Entfernung der Hauptdrüse nur Cachexia strumipriva, Stillstand des Wachstums und Myxödem, verursacht, während durch

Entfernung der Nebenschilddrüsen Krämpfe hervorgerufen werden.

P. Jeandelize spricht sich auf Grund eines großen Tatsachenmaterials im gleichen Sinne aus und beruft sich in seiner Untersuchung über die Funktionen der Schilddrüse auf mehr als 1000 Arbeiten. Beginnend mit Hoffmeister (20) sucht eine ganze Reihe von Forschern [Moussu, Cadeac, Guinard, Eiselberg (36), Akopenko (21) u. a.] den Einfluß der Exstirpation der Schilddrüse auf die Hemmung der physischen und psychischen Entwicklung und anderer trophischer Funktionen experimentell an Tieren aufzuklären. Infantilismus, Kretinismus, Myxödem und die diesen eigentümlichen physischen und psychischen Störungen am Menschen, im Zusammenhang mit Erkrankungen der Schilddrüse, sind Gegenstand einer umfangreichen Literatur. Pisenti und Viola (35) schlugen zuerst vor, Tieren, denen die Schilddrüsen entfernt worden waren, das Drüsenextrakt zu Heilzwecken zu injizieren. Wie bekannt, transplantierte Kocher schon im Jahre 1883 einem an Cachexia strumipriva leidenden Kranken die Schilddrüse eines Hundes unter die Haut; ebenso erzielten Biercher und Horsley (22) bei Transplantationen der Schilddrüse gesunder Tiere an solche Tiere, welche an Myxödem litten, gute Erfolge. Fox (23) und Murray (24) schlugen vor, Menschen zu Heilzwecken den Schilddrüsensaft subcutan zu injizieren, während Mackenzie (25) die Eingabe per os von roher oder gekochter Schilddrüse einführte. Außer bei solchen Krankheiten, wie Infantilismus, Kretinismus und Myxödem, wo die Verordnung von Schilddrüsenpräparaten, als auf wissenschaftlicher Grundlage beruhend, gute Resultate ergab, wurde jedoch dieselbe Behandlung auch bei den verschiedenartigsten Erkrankungen des Organismus angewendet, z. B. bei Hautkrankheiten, Nervenleiden, Krankheiten des Blutes, der Gefäße, der Geschlechtsorgane usw.

Zudem wurde diese Behandlung auch häufig ohne genügende Begründung angewandt, weshalb die Resultate oft einander widersprechen; ferner stellte sich bald heraus, daß reichliche Verordnung von Thyreoidin nicht ungefährlich ist und schwere Vergiftungserscheinungen zur Folge haben kann. Wenn wir die Literatur über die Verwendung von Thyreoidin bei

verschiedenen geistigen Erkrankungen durchmustern [Robertson, Burges, Milla, Easterbook, Rombe, Schuljanski, Gerwer (26), Pilc (27), Zatorjiet (28), C. Parhon (29) u. a.], so finden wir, daß die von den Autoren erhaltenen Resultate gleichfalls einander widersprechend sind, da auch hier die Behandlung größtenteils an zufällig gewählten Patienten vorgenommen worden war; in den Fällen jedoch, wo Hinweise auf einen Zusammenhang der geistigen Erkrankungen mit Funktionsstörungen der Schilddrüse vorlagen, waren die Resultate zufriedenstellend.

Die Chemie der Schilddrüse und ihres Sekretes hat gleichfalls ihre Literatur, die mit der Arbeit Baumanns, der das beständige Vorkommen von J in der Drüse nachwies, beginnt. In betreff der Chemie der Schilddrüse sind noch die Arbeiten von Roß, Oswald, Gautier und Bertrand, Notkin, Fränkel u. a. bekannt. Auf die bei diesen Untersuchungen isolierten verschiedenartigen Substanzen (Jodothyrin — Baumann, Jodthyreoglobulin und Thyreoglobulin — Oswald, Thyreoproteid — Notkin) weisen die Autoren, als auf die hauptsächlichsten wirksamen Agenzien der Schilddrüse hin. Infolge dieser miteinander im Widerspruch stehenden Beobachtungen fahren viele Ärzte fort, die rohe Schilddrüse oder das gewöhnlich als Thyreoidin bezeichnete, käufliche, trockene Präparat zu verordnen.

Ich muß nun noch auf einige Untersuchungen über den Stoffwechsel, insbesondere den Gaswechsel, die Oxydationsprozesse und die Giftigkeit des Harns an Tieren nach Exstirpation der Schilddrüse und an Menschen und Tieren bei innerlichem Gebrauch dieser Drüse eingehen.

Um den Einfluß des Thyreoidins auf den Organismus zu prüfen, injizierte Ewald bereits im Jahre 1887 seinen Versuchstieren das Drüsenextrakt subcutan und intravenös und erhielt charakteristische Vergiftungserscheinungen. Vermehren (32) konstatierte im Jahre 1893 sowohl an Myxödemkranken wie auch an Patienten, die nicht an dieser Krankheit litten, nach Thyreoidingebrauch eine Verstärkung der Stickstoffausscheidung. Verstraeten und Vanderlinden (36) fanden, daß die Stickstoffausscheidung nach Entfernung der Schilddrüse bei Hunden erhöht, bei Katzen hingegen vermindert würde. Roß

beobachtete bei Fütterung mit größeren Mengen Schilddrüsen beim Hunde eine Erhöhung der N-, P- und NaCl-Ausscheidung; nach Exstirpation der Drüse erwies sich nun, daß die N- und NaCl-Ausscheidung vermehrt, die Phosphormenge dagegen vermindert war. Schlotthauer (36) fand bei einem Kaninchen mit ausgerotteter Schilddrüse eine Verminderung der N-Menge. Gluziński und Lemberger (34) untersuchten den Stickstoffumsatz eines gesunden Menschen nach innerlichem Gebrauch von Schilddrüsen und stellten fest, daß hierdurch eine Verstärkung der N-Ausscheidung und eine Steigerung des Zerfalls der Fette und Eiweißstoffe im Körper hervorgerufen wird. Dieselben Autoren (36) erhielten nach Entferuung der Schilddrüse bei einem Hunde eine erhöhte, bei einem anderen Hunde eine verminderte N-Ausscheidung; die Phosphormenge war in beiden Fällen gesunken. Ver Ecke (35) beobachtete an Tieren nach Thyreoidektomie Sinken des Stoffwechsels und eine Abnahme der Ausscheidung von H_2O, N, P und NaCl. Petrowski (35) zeigte in seiner eingehenden Arbeit, daß die Entfernung der Schilddrüse unzweifelhaft den gesamten Stoffwechsel herabdrückt, die Unfälle von Tetanie hingegen zur Anregung desselben beitrugen, und diese somit als ein Mittel zur Selbsthilfe des Organismus betrachtet werden können. Im Schlußteil seiner Arbeit vertritt Dr. Petrowski die Ansicht, daß die Schilddrüse an den Funktionen von allgemeinem Charakter Anteil nimmt. Mit anderen Autoren (Andriesen) vermutet er, daß das Sekret der Schilddrüse die Oxydation in den Geweben und auch die Sauerstoffabsorption befördert. Schryner (37) untersuchte die Autolyse der Leber von normalen Tieren und von solchen, die mit Schilddrüsen gefüttert worden waren und fand, daß die Autolyse bei letzteren schneller verlief. Ducceschi (38) studierte an Tieren nach Exstirpation der Schilddrüse die Energie der Oxydationsprozesse, indem er eine bestimmte Benzolmenge in den Organismus einführte und die im Harn ausgeschiedene Ätherschwefelsäure bestimmte. Die Resultate waren nicht ganz übereinstimmend; im allgemeinen konnte jedoch eine Abschwächung der Oxydation beobachtet werden. Bei den Untersuchungen von Michelsen (39) über den Gaswechsel unter dem Einfluß der Entfernung der Schilddrüse (wobei jeder einzelne Versuch immer nur 2 Stunden

dauerte) wurde eine Verstärkung der CO_2-Ausscheidung konstatiert, während die Ausscheidung von Wasserdämpfen, mit Ausnahme von einem Fall, vermindert war. Der Autor kommt zu dem Schluß, daß die Entfernung der Schilddrüse den Gaswechsel verstärkt. L. Smith (36) konnte an Katzen keine merkliche Veränderung des Gaswechsels nach Exstirpation der Schilddrüse beobachten. Schlotthauer (46) bestimmte den Gaswechsel gleichfalls nur im Laufe von 2 Stunden und fand eine Verminderung der Sauerstoffabsorption und Kohlensäureausscheidung; das Kaninchen nahm nach der Operation sogar an Gewicht zu. Petrowski untersuchte den Gaswechsel an hungernden Tieren, denen die Schilddrüse entfernt worden war. In dem ersten Versuche, an einem Hunde, hatte sich die CO_2-Menge vermindert, während sich der Atmungskoeffizient, wahrscheinlich infolge gleichzeitiger Abnahme der O_2-Absorption, vergrößert hatte. Beim zweiten Versuche, an einem Kaninchen, hatte sich die CO_2-Ausscheidung und die O_2-Absorption vermindert, wobei der Atmungskoeffizient auch hier ein höherer war. Beim dritten Versuch blieb das Kaninchen nur 28 Stunden nach der Operation am Leben; während einer Periode, wo keine Krämpfe aufgetreten waren, war die CO_2-Ausscheidung bis auf 36,4°/₀, die O_2-Absorption noch mehr gesunken, wobei der Atmungskoeffizient um 42°/₀ gestiegen war; während der Krämpfe verstärkte sich sowohl die CO_2-Ausscheidung wie auch die Sauerstoffabsorption; der Atmungskoeffizient blieb gleichfalls ein höherer.

Auf die Versuche mit Injektion und Transfusion von Lymphe und Blut von Tieren, denen die Schilddrüse entfernt worden war, will ich nicht näher eingehen. Ich erwähne nur, daß die Mehrzahl der Autoren zu dem Schluß gekommen ist, daß das Blut solcher Tiere giftiger geworden sei. Versuche, bei denen der osmotische Druck der verwendeten Lymphe bestimmt worden wäre, sind mir unbekannt.

Eine große Zahl von Beobachtungen ist bei der Untersuchung der Toxizität des Harns von Tieren mit exstirpierter Schilddrüse gemacht worden, wobei die Mehrzahl der Forscher findet, daß der Harn giftiger wird [Alonzo, Laulanie (41), Masoin, Gley, Verstraeten (36) u. a.]; einige hingegen (Ughetti, Godard und Slosse) konnten keine Erhöhung der Toxizität

des Harns konstatieren. Alle diese Untersuchungen wurden gleichfalls ohne Bestimmung des osmotischen Druckes des zur Injektion verwendeten Harns ausgeführt, so daß ihre Bedeutung gegenwärtig nur eine beschränkte ist.

Wie schon erwähnt wurde, benutzte ich das getrocknete Schilddrüsenpulver von **Merck**. Gewöhnlich wurde 1 g Substanz abgewogen und mit 10 oder 20 ccm Wasser zerrieben. Die Masse, die häufig neu zubereitet werden muß, wurde mit einigen Stückchen Thymol in einem Glasgefäß mit angeschliffenem Stöpsel aufbewahrt. In der letzten Zeit gebrauchte ich 2 g Thyreoidin auf 10 ccm H_2O + Glycerin. Zuweilen wurde die Thyreoidin-„Emulsion" subcutan injiziert, meist führte ich sie jedoch dem Tiere per os ein, wobei es aber häufig geschah, daß das Kaninchen nicht die ganze Menge der ihm mit Hilfe einer Glaspipette in den Schlund eingeführten Emulsion verschluckte, sondern einen Teil der Flüssigkeit mit der Zunge oder durch Prusten ausstieß.

Die Exstirpation der Schilddrüse wurde ohne Narkose aseptisch durchgeführt. Die Wunde wurde lege artis vernäht und verheilte per primam intentionem.

Versuche mit Injektion von Thyreoidin.

1. Weißes Männchen von 3707 g Gewicht; wurde am 20./XI. 1903 in den Käfig gesetzt. 22./XI. Harnmenge 100 ccm, Phenol im Harn nicht vorhanden; $\frac{N^0}{N}$ Koeffizient **Pöhl-Robin** = $\frac{1,23}{1,36}$ = 0,90. Dem Kaninchen wurde 1 g Benzol subcutan injiziert. 24./XI. Harnmenge 220 ccm $\frac{N^0}{N} = \frac{2,66}{2,89} = 0,92$; Phenol = 0,0949 g. 26./XI. Harnmenge 330 ccm, Phenol (Ph) = 0,1497. Im ganzen waren 0,253 g Phenol oxydiert worden. 29./XI. Phenol im Harn nicht vorhanden. Injektion von 1 g Benzol. 30./XI. Harnmenge = 170 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{2,03}{2,29} = 0,89$; Ph = 0,109. 4./XII. Harnmenge = 230 ccm, Ph = 0,136 g. Im ganzen wurden 0,245 g Ph gefunden. Am 5./XII. und 6./XII. wurden je 0,15 g Thyreoidin (**Merck**), in Wasser suspendiert, subcutan injiziert. Am 7./XII. war das Kaninchen verendet.

2. Gelbes Männchen, wurde am 2./V. 1904 in den Käfig gesetzt; Ph im Harn nicht vorhanden. 4./V. Gewicht 1960 g; Injektion von 1 g Benzol; 6./V. Harnmenge 120 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,23}{1,37} = 0,89$, Ph = 0,03, 8./V. Harnmenge = 90 ccm; Ph = 0,177; im ganzen waren 0,207 g Phenol oxydiert worden.

8./V. 0,3 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert, per os einverleibt. Am 9./V. und 10./V. erhielt das Tier je 0,2 g Thyreoidin innerlich. 8./V. Injektion von 1 g Benzol. 11./V. das Kaninchen ist krank, zittert, sitzt zusammengekauert. Harnmenge = 150 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,92}{3,19} = 0,60$, Ph = 0,256. Am 12./V. verendete das Kaninchen; Gew. 1620 g. Der der Blase entnommene Harn enthält Spuren von Phenol. Im Ganzen Ph = 0,256.

3. Weißes Männchen, wurde am 3./III. 1904 in den Käfig gesetzt; Gew. 1230 g, Temp. 38,6°, Ph im Harn nicht vorhanden; am 5./III. erhielt es 1 g Benzol. 8./III. Harnmenge 90 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,15}{1,29} = 0,89$, Ph = 0,181. 11./III. Harnmenge 100 ccm; Ph = 0,01. Im ganzen 0,191 g Phenol. 11./III. Gew. 1290 g, Temp. 39°, subcutane Injektion von 0,1 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert. 12./III. Injektion von 0,1 g Thyreoidin und 1 g Benzol. 13./III., 14./III. und 15./III. je 0,1 g Thyreoidin subcutan. 15./III. Harnmenge 70 g, $\frac{N^0}{N} = \frac{0,93}{1,1} = 0,86$; Ph = 0,177 g. 18./III. Harnmenge 60 ccm; Spuren von Phenol. Im ganzen waren 0,177 g Phenol oxydiert worden. Am 17./III., 18./III. und 19./III. subcutan je 0,05 g Thyreoidin. 18./III. Gew. 1109 g, Temp. 40,3°. Injektion von 1 g Benzol (an der Stelle, wo das Thyreoidin injiziert worden war, keine Abscesse. 20./III. Harnmenge 95 ccm, Ph = 0,204 g. 23./III. Harnmenge 90 ccm, Ph. = 0 02 g. Im ganzen waren 0,224 g Phenol oxydiert worden. Gew. 960 g. Subcutan 0,2 g Thyreoidin. Das Kaninchen verendete während der Nacht. Obduktionsbefund: Vereiterung der Bauchwände; starke Hyperämie der Leber und Testikeln, Herz und Lungen gesund.

4. Graues Männchen mit weißem Hals; Gew. 2115 g, Temp. 39,3°; wurde am 3./III. 1904 in den Käfig gesetzt. Phenol

im Harn nicht vorhanden. 4./III. Injektion von 1 g Benzol. 6./III. Harnmenge 100 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,9}{2,16} = 0,89$, Ph = 0,166 g. 9./III. Harnmenge 100 ccm, Ph = 0,01 g. Im ganzen wurden 0,176 g Phenol oxydiert. 11./III. Gew. 2098 g, Temp. 39,2°. Subcutan 0,1 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert. 12./III. Phenol im Harn nicht vorhanden. Subcutan 0,15 g Thyreoidin und und 1 g Benzol. Am 13./III., 14./III. und 15./III. subcutan je 0,1 g Thyreoidin. 16./III. Harnmenge 100 ccm, Ph = 0,04. 18./III. Harnmenge 160 ccm, Ph = 0,145. Im Ganzen waren 0,185 g Phenol oxydiert worden.

18./III. Gew. 1740 g, Temp. 40,4°. Subcutan 0,1 g Thyreoidin und 1 g Benzol. 19./III. 0,1 g Thyreoidin. 20./III. Harnmenge 150 ccm $\frac{N^0}{N} = \frac{2,68}{3,48} = 0,77$, Ph = 0,186. 21./III. Harnmenge 155 ccm, Ph = 0,013. Im ganzen waren 0,199 g Benzol oxydiert worden. Am 20./III. und 21./III. erhielt das Tier subcutan je 0,1 g Thyreoidin. Am 21./III. nachts verendete das Kaninchen. Obduktionsbefund: Gew. 1467 g. Im Harn Spuren von Phenol, die Bauchwände an den Stellen, wo das Thyreoidin injiziert worden war, verdickt und mit Eiter infiltriert. Leber und Testikeln hyperämisch.

5. Graues Männchen mit weißen Vorderpfoten, wurde am 10./V. 1904 in den Käfig gesetzt. 12./V. Gew. 1453 g, Temp. 38,7°. Injektion von 1 g Benzol. Am 15./V. wurden 0,06 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert, per os eingeführt. 16./V. Harnmenge 110 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{2,47}{2,75} = 0,90$, Ph = 0,317. 16./V. Subcutan 1 g Benzol und per os 0,06 g Thyreoidin. 17./V. und 18./V. je 0,06 Thyreoidin innerlich. 18./V. Harnmenge 80 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{2,09}{2,42} = 0,87$, Ph = 0,338. Weiter erhielt das Tier bis zum 27./V. je 0,06 g Thyreoidin innerlich. 20./V. Harnmenge 40 ccm, Ph = 0,01 g. Im ganzen waren aus 1 g Benzol 0,348 g Phenol oxydiert worden.

22./V. Harnmenge 50 ccm, Phenol nicht vorhanden, Gew. 1152 g, Temp. 39,7°, Injektion von 1 g Benzol. 25./V. Harnmenge 110 ccm, Ph = 0,404 g. 28./V. Harnmenge 90 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{2,27}{2,75} = 0,82$, Phenol fehlt. Im ganzen waren 0,404 g Ph

oxydiert worden. 28./V. Gew. 948 g, Temp. 39,6°, Injektion von 1 g Benzol. Vom 28./V. bis zum 5./VI. erhielt das Kaninchen Sperminessenz von Pöhl innerlich. 1./VI. Harnmenge 175 ccm, Ph = 0,174. 2./VI. Phenol im Harn nicht vorhanden. Im ganzen waren 0,174 g Phenol oxydiert worden. 3./VI. Gew. 815 g, Temp. 39,5°, 1 g Benzol subcutan. 4./VI. Harnmenge 50 ccm, Ph = 0,069 g. 5./VI. Harnmenge 20 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{0,528}{0,636} = 0,79$, Ph = 0,077. Im ganzen waren 0,146 g Phenol oxydiert worden.

Vom 3./VI. war das Tier schwer krank und verendete am 5./VI. Gew. 715 g, Schilddrüse bleich und klein, Leber und Nebennieren hyperämisch.

6. Am 25./X. 1904 wurde ein graues Männchen, von 2820 g Gew., in den Käfig gesetzt. Harn 78 ccm, Phenol nicht vorhanden. Subcutan 1 g Benzol. 27./X. 140 ccm Harn, Ph. = 0,273 g. 28./X. 22 ccm Harn, nicht wägbare Spuren von Phenol, $\frac{N^0}{N} = \frac{0,55}{0,59} = 0,93$. 29./X. 80 ccm Harn, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,99}{2,16} = 0,93$, Ph = 0. Im ganzen wurden 0,275 g Phenol oxydiert. Am 29./X. subcutan 1 g Benzol. 1./XI. 160 ccm Harn, Ph = 0,199. 3./XI. 105 ccm Harn, Ph = 0,085 g. Im ganzen wurden 0,284 g Phenol oxydiert. Am 6./XI. und 7./XI. wurden je 0,1 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert, subcutan injiziert. Am 8./XI. wurde 1 g Benzol und 0,2 g Thyreoidin injiziert. 9./XI. und 10./XI. je 0,2 g Thyreoidin, 10./XI. 165 ccm Harn $\frac{N^0}{N} = \frac{2,54}{2,82} = 0,91$, Ph = 0,214 g. 11./XI. 85 ccm Harn, Ph = 0,087 g. 13./XI. 160 ccm Harn, Ph = 0,004 g. Im ganzen wurden 0,305 g Ph oxydiert. Bis zum 20./XI. wurde täglich 0,1 g Thyreoidin subcutan eingespritzt. 15./XI. 1 g Benzol subcutan. 18./XI. 150 ccm Harn, $\frac{N_0}{N} = \frac{2,45}{2,96} = 0,88$, Ph = 0,184. 20./XI. Harnmenge 180 ccm, Ph = 0,080 g. Im ganzen wurden 0,264 g Ph oxydiert. Das Gewicht betrug am 20./XI., als der Versuch abgeschlossen wurde, 1520 g. Am 11./XII. wurde das Kaninchen wieder in den Käfig gesetzt, Gew. 2165 g. Erhält 1 g Benzol subcutan. 13./XII.

Harnmenge 100 ccm, $\frac{N^{0}}{N} = \frac{2,26}{2,49} = 0,91$, Ph. = 0,207 g. 15./XII. 150 ccm Harn, Ph. = 0,031 g. Im ganzen wurden 0,238 g Ph oxydiert. 15./XII. Gew. 2565 g. Dem Tiere wurde 1 g Spermium Pöhl und 1 g Benzol subcutan eingespritzt. 16./XII. und 17./XII. je 1 g Spermin subcutan. 18./XII. 80 ccm Harn, $\frac{N^{0}}{N} = \frac{1,58}{1,78} = 0,88$ g, Ph = 0,19 g. 20./XII. 80 ccm Harn, Ph = 0,023 g. Im ganzen wurden 0,213 g Ph oxydiert. Infolge von Eiterbildung an der Injektionsstelle wurde das Kaninchen nicht mehr zum Versuch gebraucht.

7. Ein buntes Männchen von 2585 g Gew. wurde am 10./III. 1907 in den Käfig gesetzt, Phenol im Harn nicht vorhanden. Erhält 1 g Benzol subcutan, Harn mit Wasser verdünnt = 200 ccm, Ph = 0,266.[1])

15./III. Phenol im Harn nicht vorhanden. Gew. 2570 g. Es wurden beim ersten Versuch 0,266 g, beim zweiten 0,253 g Phenol oxydiert. 18./III. Dem Kaninchen wurden 0,025 g Thyreoidin (getrocknetes Schilddrüsenpulver in Glycerin und Wasser zu gleichen Teilen) per os eingegeben. 20./III. Innerlich 0,025 g Thyreoidin in Glycerin und subcutan, 1 g Benzol Gew. 2385 g. 21./III. 0,025 g Thyreoidin innerlich. 24./III. Harn mit Wasser verdünnt = 200 ccm, Ph = 0,269, 0,1 g Thyreoidin innerlich und 1 g Benzol subcutan, Gewicht 2225 g. 25./III. 0,1 g Thyreoidin innerlich. 27./III. Gew. 2120 g. Harn mit Wasser 200 ccm, Ph = 0,388, 0,1 g Thyreoidin innerlich. 29./III. Gew. 2090 g, Ph im Harn nicht vorhanden. 0,1 g Thyreoidin innerlich und 1 g Benzol subcutan. 30./III. 0,1 g Thyreoidin innerlich. 1./VI. Gew. 1900 g, Harn mit Wasser 200 ccm, Ph = 0,35 g.

8. Ein weißes Männchen von 1852 g Gew. wurde am 9./IX. 1904 in den Käfig gesetzt, Temp. 38,6°. 11./IX. Harnmenge 91 ccm, spez. Gew. 1038. Der Harn wurde mit destilliertem Wasser bis auf 220 ccm verdünnt, spez. Gew. 1012, Gefrierpunkt 0,79. Zur Bestimmung der Toxizität des Harnes wurde ein Kaninchen von 575 g Gew. verwendet. Der Harn

[1]) Das Phenol war in diesen Versuchen nach Koßler und Penny bestimmt. Der Harn wurde bis auf 200 ccm verdünnt.

wurde in die Marginalvene des Ohres gespritzt. Es wurden 26 ccm Harn im Laufe von 8 Minuten injiziert. Toxizität des Harns = (2,3—0,113) 2,2 = 4,81 : 2 = 2,4. Folglich betrug die Toxizität des Harns des betreffenden Kaninchens 8 = 2,4 T (Toxien) und der urotoxische Koeffizient $= \frac{2,4}{1,85} = 1,3.$

11./IX. 1 g Benzol wurde subcutan injiziert. 13./IX. Harn 60 ccm, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,06}{1,17} = 0,90$, Ph. = 0,17 g. 14./IX. Harnmenge 30 ccm, Ph. = 0,005 g. Im ganzen wurden 0,175 g Ph. oxydiert.

20./IX. Die Tagesmenge des Harns (65 ccm) wurde bis auf 200 ccm verdünnt, spez. Gew. 1013, Gefrierpunkt 0,83. Zur Harninjektion wurde ein Kaninchen von 1505 g Gew. verwendet. Die gefundene Toxizität = 2,8 T, urotoxischer Koeffizient = 1,40. 20/IX. Gew. = 1910 g, Temp. = 38,7°, 0,15 g Thyreoidin innerlich. Vom 21./IX. bis zum 29./IX. wurde dem Tiere täglich 0,1 g Thyreoidin, in Wasser suspendiert, innerlich eingegeben. 22./IX. subcutan 1 g Benzol, Gew. = 1795 g, Temp. 40°. 24./IX. 150 ccm Harn, Ph. = 0,191 g. 26./IX. 90 ccm Harn, Ph. = 0. Im ganzen wurden 0,191 g Ph. oxydiert. 28./IX. Gew. 1468 g, Temp. 39,9°. Im Laufe von zwei Tagen waren 80 ccm Harn vom spez. Gew. 1039 ausgeschieden worden. Der Harn wurde bis auf 220 ccm verdünnt, spez. Gew. 1014, Gefrierpunkt 0,96. Zur Injektion des Harns wurde ein Kaninchen von 1655 g Gew. gewählt; dieses verendete nach 9 Minuten, wobei 44 ccm Harn injiziert worden waren $\frac{(4,0—0,466)\ 2,2}{2} =$ 3,88 T. Der urotoxische Koeffizient = 2,6, $\frac{N^0}{N} = \frac{1,72}{2,14} = 0,84.$

29./IX. Das Kaninchen ist merklich krank, zittert und drückt sich in den Winkel des Käfigs. Vom 29./IX. bis zum Tode (3./X.) erhielt es täglich 0,05 g Thyreoidin innerlich. 29./IX. Gew. 1400 g, Tagesmenge des Harns 45 ccm. Die Toxizität desselben wurde an einem Kaninchen von 630 g Gew. bestimmt und betrug 2,6 T, der urotoxische Koeffizient = 1. Am 1./X. stellte sich Durchfall ein. Gew. 1300 g, Temp. 39,5°; in zwei Tagen waren 160 ccm Harn aufgefangen worden; diese Menge wurde bis zu 250 ccm verdünnt. Spez. Gew. 1014,

Gefrierpunkt — 1,09. Zur Bestimmung der Toxizität wurde ein Kaninchen von 1500 g Gew. benutzt. Dieses verendete nach 10 Minuten. Injiziert wurden 78 ccm Harn $\frac{(1,7-0,222)\ 2,5}{2} =$ 1,85 T, der urotoxische Koeffizient 1,42.

9. Ein graues Männchen von 918 g Gew. wurde am 24./II. 1907 in den Käfig gebracht; Temp. 39,2°. Im Käfig verweilte es bis zum 2./III., worauf es in den Respirationsapparat gesetzt wurde. Hierbei wog es 900 g; Temp. 39,1°. Nach 24 Stunden wurde es herausgenommen. Gew. 920 g, Temp. 39,2°. Ausgeschieden wurden 31,57 g Kohlensäure. Durch den Apparat waren 391 l Luft gesogen worden. Aus der Glocke waren 3 Gasproben genommen worden. Der Gehalt an CO_2 und O_2 betrug in Prozenten 1. $CO_2 = 3,9$; $O_2 = 16,2$. 2. $CO_2 = 4,24$; $O_2 = 16,5$. 3. $CO_2 = 4,0$, $O_2 = 16,5$. Im Mittel $CO_2 = 4,06$, $O_2 = 16,4$. Wenn wir die Berechnung auf oben beschriebene Weise ausführen, finden wir, daß das Kaninchen im Laufe von 24 Stunden 33,37 g CO_2 ausgeatmet und 24,82 g O_2 absorbiert hat. Der Atmungskoeffizient beträgt also dem Gewicht nach $\frac{33,37}{24,82} = 1,37$, dem Volumen nach $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{16,94}{17,14} = 0,98$. Wenn wir das mittlere Gewicht des Kaninchens während der Versuchsdauer auf 910 g anschlagen und berechnen, wie groß der Atmungskoeffizient auf 1 kg Tier ist, so erhalten wir $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{18,61}{18,83} = 0,98$. Hierauf ruhte das Kaninchen bis zum 12./III. im Käfig aus, zu welcher Zeit es 874 g wog; Temp. 38,6°. Um $3^h 20'$ wurde das Tier unter die Glocke gesetzt und am 13./III. um $3^h 20'$ wieder herausgenommen. Gew. 888 g, Temp. 38,8°. In den Röhren waren 31,4 g CO_2 absorbiert worden, im ganzen hatte das Kaninchen 32,9 g CO_2 ausgeschieden. Die Uhr hatte 375 l Luft passiert, vom O_2 waren 24,82 g absorbiert worden. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich in Prozenten: 1. $CO_2 = 3,42$; $O_2 = 16,4$. 2. $CO_2 = 3,43$; $O_2 = 16,7$. 3. $CO_2 = 3,6$; $O_2 = 16,4$. Im Mittel $CO_2 = 3,46$, $O_2 = 16,5$. Atmungskoeffizient dem Gewicht nach $= \frac{33,0}{24,17}$, dem Volumen nach $= \frac{16,67}{16,9}$ oder auf 1 Kilo Tier berechnet $\frac{18,8}{19} = 0,98$. 13./III., 14./III. und 15./III.

je 0,025 g Thyreoidin in Glycerin innerlich. 15./III. Gew. 760 g, Temp. 38,9°. Wurde um 2h 45′ unter die Glocke gesetzt. Das Tier ist augenscheinlich krank, zuckt zusammen, ist ängstlich und drückt sich in die Ecke. Es wurde nach Verlauf von 24 Stunden aus dem Apparat genommen. 16./III. Gew. 700 g, Temp. 39,3°. CO_2-Gewichtszunahme der Röhren 23 g, im ganzen waren 24,19 g CO_2 ausgeschieden worden. Die Uhr hatten 355 l Luft passiert. Vom O_2 waren 27,27 g absorbiert worden. In den Luftproben fanden sich in Prozenten: 1. $CO_2 = 5{,}08$; $O_2 = 15{,}26$. 2. $CO_2 = 3{,}65$; $O_2 = 16$. 3. $CO_2 = 2{,}85$; $O_2 = 15{,}4$, im Mittel $CO_2 = 3{,}86$, $O_2 = 15{,}55$. Atmungskoeffizient $= \frac{24{,}19}{27{,}27} = \frac{12{,}28\ \text{l}}{19{,}0\ \text{l}} = 0{,}64$ oder auf 1 kg Tier berechnet $\frac{16{,}82}{26{,}12} = 0{,}64$.

Am 16./III. und 17./III. wurde dem Kaninchen Ruhe gegönnt. Am 18./III. war es wieder munterer, erhielt 0,02 g Thyreoidin innerlich; Gew. 6,86 g, Temp. 39,5°, wurde auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt, wog hiernach 680 g, Temp. 39,5°. Durch die Uhr waren 313 l Luft gesogen worden. Gewichtszunahme der Röhren an $CO_2 = 20$ g. Im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 21{,}65$ g. Absorbiertes $O_2 = 26$ g. Der Gehalt der Luftproben aus der Glocke in Prozenten: 1. $CO_2 = 3{,}06$; $O_2 = 16{,}1$. 2. $CO_2 = 2{,}77$; $O_2 = 16{,}4$. 3. $CO_2 = 3{,}66$; $O_2 = 15{,}4$, im Mittel: $CO_2 = 3{,}16$, $O_2 = 16{,}1$. Atmungskoeffizient $= \frac{21{,}65}{26{,}00} = \frac{11\ \text{l}}{17{,}9\ \text{l}}\ 0{,}61 =$ auf 1 kg Tier berechnet $\frac{16{,}0}{26{,}3} = 0{,}60$.

Erhielt vom 19./III. bis zum 23./III. inklusive nichts. 24./III. Gew. 620 g, Temp. 38,6°. Erhielt 0,1 g Thyreoidin innerlich und wurde unter die Glocke gesetzt, als es nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen wurde, wog es 605 g; Temp. 39,5°. Die Uhr hatten 351 l Luft passiert; CO_2 durch Gewichtszunahme der Röhren bestimmt 27,35, im ganzen ausgeschieden 29,58. Absorbiertes $O_2 = 22{,}49$ g. Die Luftproben aus der Glocke enthielten: 1. $CO_2 = 3{,}87$; $O_2 = 16{,}22$. 2. $CO_2 = 4{,}52$; $O_2 = 16{,}4$. 3. $CO_2 = 4{,}94$, $O_2 = 17$. Im Mittel: $CO_2 = 4{,}44$, $O_2 = 16{,}54$. Atmungskoeffizient $= \frac{29{,}58}{22{,}49}$ oder in Litern $= \frac{15{,}0}{15{,}6} = 0{,}96$, auf 1 kg Tier berechnet $\frac{24{,}5}{25{,}5} = 0{,}98$.

Am 25./III. und 26./III. nichts eingegeben. 27./III. und 28./III. innerlich je 0,1 g Thyreoidin. 29./III. Gewicht 497 g. Temp. 37,6°. Verendete am Abend.

10. Ein graues Männchen wurde am 16./XI. 1906 in den Käfig gesetzt. Das Gewicht betrug am 18./XI. 1443 g; Temp. 39°. Am selben Tage wurde es unter die Glocke gebracht. Als das Kaninchen nach 24 Stunden herausgenommen wurde, wog es 1382 g (es hatte unter der Glocke Harn gelassen), Temp. 39°. Die Uhr hatten 341 l Luft passiert. CO_2 (gewogen) $= 44{,}1$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 47{,}18$ g; absorbierter $O_2 = 33{,}19$ g. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten in Prozenten: 1. $CO_2 = 6{,}46$; $O_2 = 14{,}1$. 2. $CO_2 = 6{,}63$; $O_2 = 13{,}9$. 3. $CO_2 = 6{,}31$; $O_2 = 14{,}2$; im Mittel $CO_2 = 6{,}47$; $O_2 = 14{,}1$. Atmungskoeffizient $\frac{47{,}18}{33{,}19} = \frac{23{,}94\ l}{23{,}21} = 1{,}03$ oder auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{16{,}95}{16{,}43}$.

19./XI. 0,02 g Thyreoidin innerlich. 20./XI. 0,025 g Thyreoidin in Glycerin innerlich. Gewicht 1400 g, Temp. 39,4°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt; als es nach 24 Stunden herausgenommen wurde, wog es 1320 g; Temp. 39,2°. Die Uhr hatten 337 l Luft passiert. CO_2 (gewogen) $= 47{,}77$ g; im ganzen waren 50,54 g CO_2 ausgeschieden worden. Die der Glocke entnommene Luft enthielt in Prozenten: 1. $CO_2 = 9{,}1$; $O_2 = 12{,}25$. 2. $CO_2 = 7{,}7$; $O_2 = 12{,}5$. 3. $CO_2 = 6{,}39$; $O_2 = 12{,}75$; im Mittel $CO_2 = 7{,}72$; $O_2 = 12{,}5$. Absorbierter $O_2 = 41{,}71$. Atmungskoeffizient $\frac{50{,}54}{41{,}71}$ oder $\frac{25{,}63\ l}{29{,}16} = 0{,}87$, auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{18{,}9}{21{,}4}$.

Am 21./XI. wurde dem Kaninchen nichts eingegeben. 22./XI. 0,05 g Thyreoidin innerlich. 23./XI. 0,025 g Thyreoidin innerlich; Gew. 1325 g; Temp. 39,1°. Es wird unter die Glocke gesetzt. Als es nach 24 Stunden herausgenommen wurde, wog es 1315 g; Temp. 39,1°. Die Uhr hatten 345 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 45{,}34$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 48{,}27$ g; absorbierter $O_2 = 41{,}83$. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich in Prozenten: 1. $CO_2 = 6{,}63$; $O_2 = 13{,}34$. 2. $CO_2 = 4{,}67$; $O_2 = 13{,}45$. 3. $CO_2 = 6{,}32$; $O_2 = 12{,}65$. 4. $CO_2 = 6{,}62$;

$O_2 = 11,44$; im Mittel $CO_2 = 6,02$; $O_2 = 12,72$. Atmungskoeffizient $\frac{48,27}{41,83} = \frac{24,5 \text{ l}}{29,2}$, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{18,5}{22,1} = 0,84$.

Am 24./XI. wurde dem Kaninchen nichts eingegeben; 25./XI. 0,05 g Thyreoidin innerlich; es wird unter die Glocke gesetzt; Gewicht 1270 g; Temp. 39,2°. Als es nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen wurde, wog es 1180 g, Temp. 39,1°. Die Uhr hatten 338 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 44,4$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 47,38$ g; absorbierter $O_2 = 43,08$. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten in Prozenten: 1. $CO_2 = 7,0$; $O_2 = 11,3$. 2. $CO_2 = 6,0$; $O_2 = 12,6$. 3. $CO_2 = 6,46$; $O_2 = 12,93$; im Mittel $CO_2 = 12,28$; $O_2 = 6,48$. Atmungskoeffizient $\frac{47,38}{43,08} = \frac{24,0}{31,0}$ l auf 1 kg Körpergewicht $\frac{19,3}{25,3} = 0,76$.

Am 26./XI. wurde dem Kaninchen nichts eingegeben. 27./XI. 0,1 g Thyreoidin innerlich. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt; Gew. 1170 g; Temp. 39,3°. Nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen, wog das Tier 1080 g; Temp. 38°. Durchfall, zittert, drückt sich in die Ecke des Käfigs. Die Uhr hatten 344 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 37,1$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 39,33$ g. Absorbierter $O_2 = 35,95$ g. Die Luftproben aus der Glocke enthielten in Prozenten: 1. $CO_2 = 6,3$; $O_2 = 12,6$. 2. $CO_2 = 4,6$; $O_2 = 14,4$. 3. $CO_2 = 5,12$; $O_2 = 14,2$; im Mittel $CO_2 = 5,34$; $O_2 = 13,73$. Atmungskoeffizient $\frac{39,33}{35,95} = \frac{20,0}{25,1}$ l; auf 1 kg Körpergewicht $\frac{17,8}{22,3} = 0,79$. Hierauf wurde das Tier befreit.

11. Ein graues Männchen wurde am 8./XI. 1906 in den Käfig gesetzt. 10./XI. Gew. 1300 g; Temp. 38,6° unter die Glocke gebracht. Nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen, wog es hiernach 1295 g; Temp. 38,9°. Durch den Apparat gesogene Luftmenge 335 l. Gewogene $CO_2 = 44,55$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 47,34$ g. Absorbierter $O_2 = 29,64$ g. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten im Mittel in Prozenten: $CO_2 = 6,3$; $O_2 = 14,8$. Atmungskoeffizient $\frac{47,34}{29,64} = \frac{24,0}{20,7}$ l; auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{18,4}{15,9} = 1,15$.

Am 12./XI. bekam das Tier 0,025 g Thyreoidin in Glycerin innerlich. Wurde sogleich unter die Glocke gesetzt. Gew. 1350 g; Temp. 39°. Als das Tier nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen wurde, wog es 1270 g; Temp. 39,2°. Die Uhr hatten 334 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 42,4$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 44,71$. Absorbierter $O_2 = 36,41$. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich in Prozenten im Mittel $CO_2 = 6,18$; $O_2 = 13,26$. Atmungskoeffizient $\frac{44,71}{36,41} = \frac{22,7}{25,4}$ l; auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{17,4}{19,4} = 0,89$.

12./XI. Dem Kaninchen wurde nichts eingegeben. 14./XI. 0,025 g Thyreoidin innerlich. Gew. 1195 g; Temp. 39°. Das Tier wurde unter die Glocke gesetzt. Nach 24 Stunden herausgenommen, wog es 1120 g; Temp. 38,5°. Durch die Uhr waren 343 l Luft gezogen worden. Gewogene $CO_2 = 37,95$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 41,92$ g. Absorbierter $O_2 = 35,45$. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich im Mittel in Prozenten: $CO_2 = 5,76$; $O_2 = 13,37$. Atmungskoeffizient $\frac{41,95}{35,45} = \frac{21,4}{24,8}$ l; auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{18,5}{21,4} = 0,86$. Merklich krank. 15./XI. 0,025 g Thyreoidin innerlich. 16./XI. verendet.

12. Ein graues, junges (noch nicht ausgewachsenes) Männchen wurde am 10./III. 1905 zum Versuch genommen. Am 11./III. wurde es unter die Glocke gesetzt; Gew. 798 g. Als es nach 24 Stunden herausgenommen wurde, wog es 800 g. Gewogene $CO_2 = 28,5$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 30,65$. Absorbierter $O_2 = 25,1$ g; die Uhr hatten 454 l Luft passiert. Atmungskoeffizient $\frac{30,65}{25,1} = \frac{15,5}{17,5}$ l; auf 1 kg Tier $\frac{19,4}{21,9} = 0,90$. 13./III. wurde von neuem unter die Glocke gesetzt; Gew. 805 g. Wog nach 24 Stunden 804 g. Durch den Apparat waren 472 l Luft geleitet worden. Gewogene $CO_2 = 27,24$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 29,24$. Absorbierter $O_2 = 24,69$. Atmungskoeffizient $\frac{29,24}{24,69} = \frac{14,8}{17,2}$ l; auf 1 kg Körpergewicht $\frac{18,4}{21,4} = 0,86$.

14./III. und 15./III. Innerlich je 0,1 g Thyreoidin. 15./III. Gewicht 807 g. Das Tier wird unter die Glocke gebracht;

wog bei der Herausnahme nach 24 Stunden 770 g. Die Uhr hatten 444 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 27{,}58$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 29{,}6$. Absorbierter $O_2 = 36{,}17$. Atmungskoeffizient $\frac{29{,}6}{36{,}17} = \frac{15{,}0}{25{,}3}$ l; oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{19{,}0}{32{,}1} = 0{,}60$.

16./III. 0,1 g Thyreoidin innerlich; 17./III. gleichfalls; das Tier wurde unter die Glocke gebracht; Gew. 775 g; wog nach 24 Stunden 732 g. Die Uhr hatte 318 l Luft registriert. Gewogene $CO_2 = 24{,}46$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 27{,}6$. Absorbierter $O_2 = 35{,}45$. Atmungskoeffizient $\frac{27{,}6}{35{,}45} = \frac{14{,}0}{24{,}8}$ l, oder auf 1 kg Tier berechnet $\frac{18{,}5}{33{,}0} = 0{,}56$.

19./III. und 20./III. 0,25 g Thyreoidin innerlich. 20./III. Gew. 6,83 g; das Tier wurde unter die Glocke gesetzt; es wog nach 24 Stunden, als es herausgenommen wurde, 665 g. Durch den Apparat waren 312 l Luft geleitet worden. Gewogene $CO_2 = 25{,}87$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 28{,}85$. Absorbierter $O_2 = 34{,}57$. Atmungskoeffizient $\frac{28{,}85}{34{,}57} = \frac{14{,}6}{24{,}2}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{21{,}6}{35{,}7} = 0{,}60$.

22./III. und 23./III. je 0,25 g Thyreoidin innerlich. Das Tier wurde am 23./III. unter die Glocke gesetzt; Gew. 642 g. Nach 24 Stunden herausgenommen; Gew. 645 g. Die Uhr hatten 409 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 311$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 32{,}6$ g. Absorbierter $O_2 = 30{,}34$ g; Atmungskoeffizient $\frac{32{,}6}{30{,}34} = \frac{15{,}8}{21{,}2}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{24{,}5}{33{,}0} = 0{,}74$.

24./III. 0,05 g Thyreoidin innerlich; deutliche Vergiftungserscheinungen. 25./III. 0,05 g Thyreoidin innerlich; Gew. 640 g. Das Tier wurde wieder unter die Glocke gesetzt und nach 24 Stunden herausgenommen; Gew. 610 g. Durch den Apparat wurden 407 l Luft geleitet. Gewogene $CO_2 = 30{,}1$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 32$ g. Absorbierter $O_2 = 29$ g.

Atmungskoeffizient $\frac{32,0}{29,0} = \frac{16,2}{20,0}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{26,0}{32,0} = 0,80$.

13. Ein schwarzes Kaninchen (Männchen) wurde am 26./II. 1905 in den Käfig gelassen. Wurde am 28./II. unter die Glocke gesetzt; Gew. 800 g. Nach 24 Stunden wog es 782 g. Die Uhr hatten 359 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 26,52$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 28,7$ g. Absorbierter $O_2 = 25,42$ g. Atmungskoeffizient $\frac{28,7}{25,42} = \frac{14,6}{17,7}$ l, oder auf 1 kg Tier $\frac{18,4}{22,3} = 0,82$.

3./III. Gew. 760 g; das Tier wurde unter die Glocke gesetzt. Es wog nach 24 Stunden 746 g. Die Uhr hatten 533 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 26,37$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 28,1$ g. Absorbierter $O_2 = 25$ g. Atmungskoeffizient $\frac{28,1}{25,0} = \frac{14,2}{17,4}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{18,9}{23,1} = 0,81$.

4./III. und 5./III. je 0,1 g Thyreoidin innerlich. Das Tier wurde am 5./III. unter die Glocke gesetzt; Gew. 746 g; nach 24 Stunden 735 g. Durch den Apparat waren 517 l Luft geleitet worden. Gewogene $CO_2 = 24,99$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 27$ g. Absorbierter $O_2 = 35,3$. Atmungskoeffizient $\frac{27,0}{35,3} = \frac{13,7}{24,7}$ l, oder auf 1 kg Tier $\frac{18,5}{33,4} = 0,55$.

6./III. 0,1 g Thyreoidin innerlich; 7./III. morgens innerlich 0,1 g und um 2 Uhr, bevor das Tier unter die Glocke gesetzt wurde, noch 0,2 g Thyreoidin. Gew. 724 g; nach 24 Stunden 703 g. Die Uhr hatten 442 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 28,37$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 30,86$. Absorbierter $O_2 = 38,85$. Atmungskoeffizient $\frac{30,86}{38,85} = \frac{15,7}{27,2}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{22,0}{38,0} = 0,60$.

Am 8./III. wurde dem Kaninchen nichts eingegeben; 9./III. 0,25 g Thyreoidin innerlich; sodann wurde das Tier unter die Glocke gebracht; Gew. 710 g; nach 24 Stunden 702 g. Durch den Apparat waren 466 l Luft geleitet worden. Gewogene

$CO_2 = 28,6$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 30,57$ g. Absorbierter $O_2 = 32,8$. Atmungskoeffizient $\frac{30,57}{32,8} = \frac{15,5}{23}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht $\frac{22,0}{32,6} = 0,67$.

Vom 9./III. bis zum 1./IV., also im Laufe von 3 Wochen, wurde dem Kaninchen nichts eingegeben. Am 1./IV. wurde es unter die Glocke gesetzt; Gew. 942 g; nach 24 Stunden wog es 938 g. Die Uhr hatten 397 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 31,56$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 33,73$ g. Absorbierter $O_2 = 29,89$ g. Atmungskoeffizient $\frac{33,73}{29,89} = \frac{17,1}{20,9}$ l, oder auf 1 kg Körpergewicht berechnet $\frac{18,2}{22,2} = 0,81$.

14. Ein graues Männchen von 1152 g Gewicht wurde am 12./IV. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Temp. 38,9°. 15./IV. Phenol im Harn nicht vorhanden. 1 g Benzol subcutan einverleibt. 17./IV. Harnmenge 60 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{0,65}{0,71} = 0,91$; Ph. 0,121. 19./IV. Harnmenge 90 ccm; Ph = 0,072; Gesamtmenge Ph = 0,193 g.

20./IV. Exstirpation der Schilddrüse und einer der äußeren Gl. parathyreoidea. 23./IV. Harnmenge 100 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{1,25}{1,51} = 0,82$; Ph = 0,129. 23./IV. Verendete mittags in Krämpfen. Gew. 910 g; der der Blase entnommene Harn enthielt kein Phenol; die Operation war regelrecht verlaufen. Die Testikel vergrößert, hyperämisch.

15. Ein weißes Männchen wurde am 1./IV. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Gew. 1570 g; Temp. 39,4°; 1 g Benzol subcutan. 3./IV. Harnmenge 80 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{1,32}{1,48} = 0,90$; Ph = 0,138. 5./IV. Harnmenge 80 ccm; Ph = 0,044. Im ganzen wurden 0,182 g Ph ausgeschieden. 7./IV. Gew. 1510 g; Temp. 39,4°. Entfernung der Schilddrüse. 8./IV. 1 g Benzol subcutan. 10./IV. Gew. 1240 g; Temp. 38,8°; Harnmenge 170 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{2,16}{3,8} = 0,60$; Ph = 0,14. 13./IV. Harnmenge 100 ccm; Ph =

0,023. Im ganzen wurden 0,163 g Ph ausgeschieden. 13./IV. Gew. 1145 g; Temp. 38,8°. Das Tier verendete nachts.

16. Ein weißes Männchen mit grauen Ohren wurde am 10./V. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Gew. 1745 g; Temp. 39,3°. Im normalen Harn war kein Phenol vorhanden. 11./V. 1 g Benzol subcutan. 16./V. Harnmenge 130 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{2,45}{2,74}$ $= 0,90$; Ph $= 0,282$. Am 16./V. abends. Gew. 1670 g; Temp. 39,2°; Phenol im Harn nicht vorhanden. Entfernung der Schilddrüse und einer der äußeren Gl. parathyreoideae. 20./V. Harnmenge 110 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{1,04}{1,22} = 0,85$; Ph $= 0,302$. 22./V. Harnmenge 80 ccm; Phenol nicht vorhanden. Gew. 1460 g; Temp. 38,6°; subcutan 1 g Benzol. 25./V. Harnmenge 170 ccm; $\frac{N^0}{N} = \frac{1,73}{2,04} = 0,84$; Ph $= 0,158$ g. 25./V. Verendete abends. In dem der Blase entnommenen Harn war kein Phenol vorhanden. Die Operationsstelle war gut verheilt. Viel Fett und Ödem der serösen Häute. Die Leber äußerst blutarm.

17. Ein graues Männchen von 1562 g Gewicht wurde am 28./XI. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Temp. 39,2°. 30./XI. Tagesmenge des Harns 85 ccm; die Harnmenge wurde bis auf 140 ccm verdünnt; spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt $-0,57°$. Zur Injektion wurde ein Kaninchen von 1280 g Gew. verwendet. Injiziert wurden 40 ccm Harn $= 2,7 \times 1,7 = 3,78$ T; der urotoxische Koeffizient $= 2,42$. Das Kaninchen verendete nach 10 Minuten. 2./XII. Gewicht des Kaninchens 1700 g; Temp. 39,3°. Im Laufe von 2 Tagen waren 130 ccm Harn aufgefangen worden; spez. Gew. 1020. Die Harnmenge wurde bis auf 230 ccm verdünnt, wonach das spez. Gew. 1012 betrug; Gefrierpunkt $-0,58°$. Zur Injektion wurde ein Kaninchen von 1365 g Gew. verwendet. Injiziert wurden 33 ccm Harn. Toxizität des Harns $= \frac{(41 - 0,07)\,2,3}{2} = 4,6$ T; urotoxischer Koeffizient 2,7. Das Kaninchen verendete 10 Minuten nach Beginn der Injektion. Am 2./XII. wurden die Schilddrüse und beide äußeren Gl. parathyreoideae entfernt. 4./XII. Gew. 1535 g; Temp. 39°. An den beiden Tagen waren 115 ccm Harn vom spez. Gew. 1018 aufgefangen worden; diese Harnmenge wurde

bis auf 180 ccm verdünnt; das spezifische Gewicht betrug hiernach 1013; Gefrierpunkt —0,71°. Das zur Harninjektion dienende Kaninchen von 1257 g Gew. verendete nach 6 Minuten. Injiziert wurden 34 ccm Harn. Toxizität $= \frac{(3,7 - 0,186)\ 1,8}{2} = 3,1$ T; urotoxischer Koeffizient 2,0. 7./XII. Das Kaninchen verendete unter Krämpfen. Gew. 1445 g. Die im Laufe dieser 3 Tage gesammelte Harnmenge betrug zusammen mit dem der Blase entnommenen Harn 50 ccm. Diese Menge wurde bis zu 120 ccm verdünnt; spez. Gew. 1012. Gefrierpunkt —0,65°. Zur Injektion wurde ein Kaninchen von 1290 g Gew. verwendet. Injiziert wurden 24 ccm Harn. Toxizität $= \frac{5,5 - 0,26}{3} = 2,09$ T; urotoxischer Koeffizient 1,44. Das Kaninchen verendete nach 6 Minuten. Die Operationsstelle war gut verheilt. Leber blutarm.

18. Ein weißes struppiges Männchen wurde am 6./XII. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Am 7./XII. katheterisiert. Gewicht des Tieres 2000 g; Temp. 39,1°. 9./XII. Im Laufe von 2 Tagen waren 65 ccm Harn aufgefangen worden; diese Harnmenge wurde bis auf 220 ccm verdünnt; spez. Gew. 1012. Gefrierpunkt —0,63°. Das zum Injektionsversuch dienende Kaninchen von 1260 g Gew. verendete nach 7 Minuten. Injiziert wurden 31 ccm Harn. Toxizität $= \frac{(4,0 - 0,11)}{2}\ 2,2 = 4,679$ T; urotoxischer Koeffizient 2,34. 11./XII. Gew. 2118 g; Temp. 39,1°. Im Laufe der beiden Tage waren 90 ccm Harn ausgeschieden worden. Diese Menge wurde bis auf 200 ccm verdünnt; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt —0,6°. $\frac{N^0}{N} = \frac{0,99}{1,09} = 0,90$. Das zum Injektionsversuch dienende Kaninchen von 1490 g Gew. verendete nach 5 Min. Injiziert wurden 25 ccm Harn. Toxizität $= \frac{6,0 - 0,2}{2}\ 2 = 5,8$ T; urotoxischer Koeffizient 2,73. Subcutane Injektion von 1 g Benzol. 14./XII. Harnmenge 120 ccm; spez. Gew. 1040; Ph = 0,22. Gewicht des Kaninchens 2190 g; Temp. 39°. Ein Teil der Schilddrüse (die linke Hälfte) wurde entfernt; die Gl. parathyreoideae und nach Möglichkeit auch die rechte Hälfte der Schilddrüse wurden zurückgelassen. 16./XII. Gew. 2065 g; Temp. 38,9°.

Im Laufe der beiden Tage waren 90 ccm Harn aufgefangen worden; diese Menge wurde bis auf 240 ccm verdünnt; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt —0,72°. Das zum Injektionsversuch benutzte Kaninchen von 1475 g Gew. verendete nach 4 Minuten. Injiziert wurden 23 ccm Harn. Toxizität $= \frac{(6,4 - 0,4)\ 2,4}{2}$ $= 7,2$ T; urotoxischer Koeffizient 3,49. 18./XII. Die im Laufe zweier Tage gesammelte Harnmenge von 65 ccm wurde bis auf 240 ccm verdünnt; spez. Gew. 1011; $\frac{N^0}{N} = \frac{1,02}{1,27} = 0,80$. Gewicht des Kaninchens 2050 g; Temp. 38,6°. Subcutan 1 g Benzol. 21./XII. Gew. 2070 g; Temp. 38,4°; Harnmenge 120 ccm; spez. Gew. 1025; Ph = 0,12 g. 23./XII. Gew. 2000 g; Harnmenge 110 ccm; spez. Gew. 1027. Der Harn wurde bis auf 250 ccm verdünnt; das spez. Gew. betrug hiernach 1012; Gefrierpunkt — 0,75°. Phenol im Harn nicht vorhanden. Das zum Injektionsversuch dienende Kaninchen von 1225 g Gew. verendete nach 4 Minuten. Injiziert wurden 20 ccm Harn. Toxizität $= \frac{(6,13 - 0,45)\ 2,5}{2} = 7,1$ T; urotoxischer Koeffizient 3,37. Das Kaninchen wurde aus dem Käfig befreit, blieb am Leben und zeigte ein munteres und gesundes Aussehen.

19. Ein graues Männchen wurde am 27./III. 1904 in den Versuchskäfig gesetzt. Am 29./III. wurde es unter die Glocke gebracht; Gew. 1050 g. Als das Tier nach 24 Stunden aus dem Respirationsapparat entfernt wurde, wog es 1064 g. Die Uhr hatten 369 l Luft passiert. In den U-Röhren waren 38,2 g CO_2 absorbiert worden. Im ganzen wurden 40,9 g CO_2 ausgeschieden. Absorbierter Sauerstoff 31,9 g. Atmungskoeffizient $\frac{40,9}{31,9}$ resp. $\frac{20,7}{22,3} = 0,93$; auf ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{18,6}{21,1}$. 31./III. Gew. 1070 g. Das Tier wurde unter die Glocke gebracht. Als es nach 24 Stunden herausgenommen wurde, wog es gleichfalls 1070 g. Die Uhr hatten 425 l Luft passiert. Durch Gewichtszunahme der U-Röhren bestimmte $CO_2 = 39,02$ g. Im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 41,13$ g. Absorbierter $O_2 = 32,03$ g. In den der Glocke entnommenen Luftproben waren in Prozenten enthalten: 1. $CO_2 = 4,7$; $O_2 = 15,3$. 2. $CO_2 = 4,3$; $O_2 = 15,7$.

3. $CO_2 = 4,5$; $O_2 = 15,4$. Im Mittel $CO_2 = 4,5$; $O_2 = 15,5$. Atmungskoeffizient $= \frac{41,13\ g}{32,03\ g}$ resp. $\frac{20,8\ l}{22,4\ l} = 0,93$; auf ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{19,4}{20,9}$. Das Tier wurde am 6./IV. wieder unter die Glocke des Respirationsapparates gebracht; Gew. 1070. Als das Tier am 7./IV. nach 24 Stunden aus dem Apparat entfernt wurde, wog es 1074 g. Die Uhr hatten 437 l Luft passiert. Gewichtszunahme der U-Röhren 39,23 g. Im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 41,2$ g. Absorbierter $O_2 = 32,3$ g. Atmungskoeffizient $= \frac{41,2}{32,3}$ resp. $\frac{20,9}{22,6} = 0,92$. Auf ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{19,5}{21}$. 7./IV. Es wurden die ganze Schilddrüse und eine der äußeren Gl. parathyreoideae entfernt. 8./IV. Gew. 1058 g. Das Tier wurde in den Respirationsapparat gebracht. Als es nach 24 Stunden aus dem Apparat genommen wurde, wog es 1052 g. Durch Gewichtszunahme der U-Röhren bestimmte $CO_2 = 30,9$ g. Im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 33,07$ g. Absorbierter $O_2 = 31,07$ g. Atmungskoeffizient $= \frac{33,07}{31,07}$ resp. $\frac{16,8}{21,7} = 0,77$; oder auf ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{15,9}{20}$. 11./IV. Gew. 1062 g. Das Kaninchen wurde auf 24 Stunden unter die Glocke gebracht. Es wog hiernach 1052 g. Die Uhr hatten 475 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 30,19$ g; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 32,16$ g. Absorbierter $O_2 = 29,7$ g; Atmungskoeffizient $= \frac{32,16}{29,7}$ resp. $\frac{16,2}{20,7} = 0,78$; auf ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{15,4}{19,6}$. 23./IV. Gew. 1020 g. Das Tier wurde auf 24 Stunden in den Respirationsapparat gebracht; es wog hiernach 1010 g. Die Uhr hatten 431 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 27,71$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 29,11$; absorbierter $O_2 = 28,23$. In den der Glocke entnommenen Luftproben waren in Prozenten enthalten: 1. $CO_2 = 2,9$; $O_2 = 16,6$. 2. $CO_2 = 3,6$; $O_2 = 16.0$. 3. $CO_2 = 3,5$; $O_2 = 16,1$; im Mittel $CO_2 = 3,3$; $O_2 = 16,2$. Atmungskoeffizient $= \frac{29,11}{28,23}$ resp. $\frac{14,7}{19,7} = 0,74$; auf

ein Kilo-Tier berechnet $= \frac{14,5}{19,3}$. Am 24./IV., 25./IV., 26./IV. und 27./IV. erhielt das Kaninchen täglich je 0,1 g Thyreoidin innerlich. Am 28./IV. und 29./IV. erhielt es je 0,2 g Thyreoidin in Wasser suspendiert innerlich. Am 29./IV. wog es 1040 g und wurde auf 24 Stunden unter die Glocke des Respirationsapparates gebracht; hiernach wog es 993 g. Gewogene $CO_2 = 32,24$. Im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 34,85$. Absorbierter $CO_2 = 32,8$. Die Uhr hatten 370 l Luft passiert. In den der Glocke entnommenen Luftproben waren in Prozenten enthalten: 1. $CO_2 = 4,1$; $O_2 = 15,8$. 2. $CO_2 = 5,7$; $O_2 = 13,9$. 3. $CO_2 = 3,8$; $O_2 = 14,3$; im Mittel $CO_2 = 4,6$; $O_2 = 14,7$. Atmungskoeffizient $= \frac{34,85}{32,8}$ resp. $\frac{17,6}{22,9} = 0,77$. Auf ein Kilo-Tier $= \frac{17,3}{21,5}$. Am 29./IV., 30./IV. und 1./IV. erhielt das Kaninchen je 0,1 g Thyreoidin innerlich. 1./IV. Gew. 990 g. Das Tier wurde auf 24 Stunden in den Respirationsapparat gesetzt; es wog hiernach 995 g. Die Uhr hatten 355 l Luft passiert. Gewogene $CO_2 = 34,47$; im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 36,76$. Absorbierter $O_2 = 30,32$. Atmungskoeffizient $= \frac{34,47}{30,32}$ resp. $\frac{17,5}{21,2} = 0,82$; oder auf ein Kilo-Tier $= \frac{17,6}{21,4} = 0,82$.

Auf diese Weise rief also sowohl die subcutane als auch die perorale Einverleibung von Thyreoidin bei Tieren (Kaninchen) Steigerung der Benzoloxydation hervor. In sämtlichen Versuchen (Versuch 2 bis 8) war das Ergebnis ein gleiches, trotz der bedeutenden Gewichtsabnahme der Tiere. Wurde das Thyreoidin im Laufe eines langen Zeitraumes einverleibt, so stieg die Oxydation unter die Norm hinab (Versuch 6 und 7). In Versuch 3 war nach subcutaner Einverleibung von Thyreoidin die Oxydation vermindert; in diesem Falle handelte es sich um eine Vereiterung der Bauchwand. Es verdient erwähnt zu werden, daß auch bei anderen Kaninchen, an denen auch von mir Versuche angestellt worden sind (worüber jedoch an dieser Stelle nichts berichtet werden soll), das Auftreten der Vereiterung den Verlauf des Oxydationsprozesses veränderte. Ich halte derartige Beobachtungen einer speziellen Untersuchung für wert, denn die Klinik liefert uns fortwährend Beispiele

günstiger Einwirkung von Eiterungsprozessen im kranken Organismus auf den Verlauf vieler Geisteskrankheiten sowie von epileptischen Anfällen. W. N. Geinatz, welcher viele Exstirpationen der Schilddrüse vorgenommen hat, ist zu dem Schlusse gekommen, daß der Eiterungsprozeß bei thyreoidektomierten Tieren in der Weise wirkt, daß die Tetanieanfälle bei ihnen später auftreten.

In Versuch 5 nahm die durch Thyreoidininjektion hervorgerufene Verstärkung der Oxydationsprozesse unter dem Einflusse von Spermin bedeutend ab. Eine ähnliche Wirkung übte das Spermin auch in Versuch 6 aus: unter Einwirkung von Thyreoidin stieg bei dem Kaninchen die Benzoloxydation an, wobei das Tier fast die Hälfte seines Gewichtes einbüßte; nach einer Ruhepause wurde ihm Spermin einverleibt; es trat Verminderung der Oxydation ein, und das Kaninchen ging an einer Spermindosis zugrunde, welche auf gesunde Tiere nicht tödlich einwirkt. Gerade umgekehrt verliefen die Oxydationsprozesse bei thyreoidektomierten Tieren. Bei sämtlichen Tieren (Versuch 14 bis 18) fiel die Benzoloxydation sowohl nach partieller als auch nach totaler Thyreoidektomie, und zwar war diese Verminderung im allgemeinen stärker ausgeprägt, als wie das Anwachsen der Oxydationsprozesse nach Thyreoidineinverleibung. Nur einmal (Versuch 16) fand sich sofort nach der Operation erhöhte Oxydation, welche ihre Entstehung augenscheinlich der Operation selbst verdankte.

Der Oxydationsenergiekoeffizient von Pöhl-Robin, welcher bei normalen Kaninchen 0,87 bis 0,92 beträgt, veränderte sich in einigen Fällen nach Thyreoidineinwirkung wenig, gewöhnlich aber nahm er ab. Bei Kaninchen Nr. 2 fiel er nach bedeutenden Thyreoidindosen 24 Stunden vor dem Tode bis auf 0,60. Vermindert war er auch bei thyreoidektomierten Tieren.

Was die Harntoxizität anbetrifft, so ergaben sich nach allen Korrekturen in bezug auf den osmotischen Druck folgende Resultate. Bei Kaninchen Nr. 8 stieg die Harntoxizität nach Thyreoidineinwirkung zu Anfang deutlich an; als jedoch die Intoxikation zunahm und der physische Zustand des Tieres sich verschlimmerte, nahm die Harntoxizität in dem Maße, wie sich das Tier dem Tode näherte, ab. Ähnliche Erscheinungen konnten auch bei Kaninchen Nr. 17 beobachtet werden;

nach Exstirpation der Thyreoidea und beider Parathyreoideae nahm bei ihm die Harntoxizität zu Anfang ein wenig ab, dann aber, als sich der Zustand des Tieres verschlimmerte, fiel sie sehr stark, fast bis zur Hälfte der normalen Werte; das Kaninchen ging unter Krämpfen an Autointoxikation zugrunde. Dagegen stieg bei Kaninchen Nr. 18, dem nur ein Teil der Schilddrüse entfernt worden war, die Harntoxizität nach der Operation stark an und blieb dann die ganze Zeit über auf hohen Werten.

Was die Einwirkung der Thyreoidinintoxikation auf den Gasstoffwechsel anbetrifft, so halte ich es am richtigsten, sämtliche Werte auf 1 kg Körpergewicht zu beziehen. Das Studium des Gasstoffwechsels bei Kaninchen Nr. 9 bis 13 ergibt, daß die Thyreoidineinverleibung bei normalen Tieren erhöhte Sauerstoffresorption hervorruft. Dieses konnte ausnahmslos in allen Fällen beobachtet werden, wobei in einigen Versuchen (12 und 13) die O_2-Resorption eine so bedeutende war, daß der Atmungskoeffizient sich auf ein Drittel verminderte, trotzdem die CO_2-Menge sich wenig verändert hatte oder sogar merklich angewachsen war. Die Kaninchen, welche nach der Thyreoidineinverleibung unter die Glocke gesetzt wurden, atmeten gewöhnlich schwer und angestrengt, einige aber gingen wahrscheinlich an Sauerstoffmangel zugrunde. Was die Kohlensäureausscheidung anbetrifft, so war sie im allgemeinen gleichfalls erhöht, jedoch verhältnismäßig unbedeutend. In einigen Versuchen (Versuch 9 und 11) war die ausgeschiedene Kohlensäuremenge sogar verringert. In den Fällen, wo durch wiederholte kleine oder mittlere Dosen mehr oder weniger konstante Gaswechselstörungen hervorgerufen worden waren, steigerte die Einverleibung einer verstärkten Thyreoidindosis sowohl die CO_2-Ausscheidung als auch namentlich die O_2-Resorption, und zwar zuweilen in sehr bedeutendem Grade. Diese Steigerung hatte ihre Grenzen, jenseits welcher weitere Thyreoidindarreichung die CO_2-Ausscheidung und O_2-Resorption herabdrückte (Versuch 10, 12 und 13).

Hörte man mit der Thyreoidineinverleibung auf, so erholte sich das Tier gewöhnlich nicht leicht von den Erscheinungen des Thyreoidismus, obgleich es, wie Versuch 13 beweist, nach 21 Tagen an Gewicht stark zugenommen und der Gas-

stoffwechsel bei ihm beinahe die Norm erreicht hatte. Die Untersuchung des prozentualen Bestandes der unter der Glocke befindlichen Luft ergibt, daß diese Luft zu verschiedenen Zeiten in Abhängigkeit von dem Zeitpunkte, an welchem die Thyreoidineinverleibung stattgefunden hatte, ihrem Bestande nach eine sehr verschiedene ist. Um der Lösung dieser interessanten Frage näher zu treten, muß man den Gasstoffwechsel nicht im Laufe von 24 Stunden, sondern im Laufe eines kürzeren Zeitraumes, in verschiedenen Abständen vom Moment der Thyreoidineinverleibung, also in verschiedenen Perioden der Intoxikation, resp. des krankhaften Zustandes untersuchen. Ich enthalte mich deshalb fürs erste der Schlüsse, zu welchen man in dieser Frage komme könnte.

Die Exstirpation der Schilddrüse ruft bei Kaninchen ganz bestimmte Gaswechselstörungen hervor. Außer dem erwähnten Versuch 19 verfüge ich noch über einige Beobachtungen, von welchen eine im nächsten Abschnitte genauer beschrieben werden soll. Aus all diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Thyreoidektomie den Gasstoffwechsel herabdrückt, wobei diese Verminderung mehr den Sauerstoff als die Kohlensäure betrifft, weshalb der Atmungskoeffizient sinkt. Die Behandlung derartiger Tiere mit Thyreoidin (Versuch 19) verstärkt den Gasstoffwechsel von neuem, wobei diese Verstärkung mehr den O_2, weniger die CO_2 betrifft; beim Kaninchen Nr. 19 begann unter Einwirkung des Thyreoidins das Gewicht zu fallen, die O_2-Resorption stieg über die Norm, die CO_2-Ausscheidung, aber erreichte die normalen Werte doch nicht. Diese Beobachtung stimmt mit den Befunden von Petrowski, welcher bei thyreoidektomierten Tieren Verminderung des Gasstoffwechsels und Erhöhung des Atmungskoeffizienten fand, nicht überein. Der Unterschied ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß ich meine Versuche an Tieren, welche Nahrung zu sich nahmen, Petrowski aber an hungernden Tieren anstellte.

Meine Beobachtungen bestätigen außerdem die bekannte Tatsache, daß die Thyreoidineinverleibung Gewichtsabnahme und Temperaturerhöhung hervorruft. Erreichte der Thyreoidismus bedeutende Grade, so fiel die Temperatur unter die Norm, bestand die Vergiftung weiter fort, so ging das Tier zugrunde

(Versuch 10 und 11). Dieser schwere Intoxikationszustand ging dann mit Verminderung der Oxydation, des Gasstoffwechsels, namentlich der CO_2-Ausscheidung, und der Harntoxizität Hand in Hand. Die Thyreoidektomie übte entweder keinen merklichen Einfluß auf das Körpergewicht aus, oder dieses letztere fiel mehr oder weniger. Auch die Temperatur fiel hierbei gewöhnlich, in einigen Fällen sogar bedeutend (Versuch 15, 16 und 18). In meinen Untersuchungen finden sich keine Angaben, nach denen man den Stickstoffwechsel genau abschätzen könnte; augenscheinlich aber stieg die Stickstoffausscheidung unter Einwirkung von Thyreoidin, während sie nach der Thyreoidektomie fiel. Ebenso verstärkt wahrscheinlich der Thyreoidismus die Harnausscheidung, während die Thyreoidektomie sie in einigen Fällen steigerte, in anderen aber verminderte.

Was den Grad der Thyreoidinwirkung anbetrifft, so war sie am schwächsten bei subcutaner Einwirkung im Gemisch mit Wasser, sodann bei innerer Darreichung per os und am stärksten bei innerer Darreichung im Gemisch mit Glycerin ausgeprägt. Es müssen die individuellen Eigenschaften der Tiere in Betracht gezogen werden; so rief z. B. bei Kaninchen Nr. 9 die innere Darreichung von je 0,025 g Thyreoidin täglich Erscheinungen einer schweren Intoxikation und entsprechende Störungen des Gasstoffwechsels hervor, während bei Kaninchen Nr. 12, welches weniger wog als wie Nr. 9 und im Laufe von 4 Tagen je 0,1 g täglich dargereicht bekam, keine Vergiftungserscheinungen zu beobachten waren. Es kamen Kaninchen vor, für welche die zweimalige Darreichung von je 0,06 g Thyreoidin in Glycerin sich als tödlich erwiesen. Ein genaueres Studium dieser individuellen Verschiedenheiten kann meiner Ansicht nach sowohl in theoretischer als auch in praktischer Beziehung überaus interessante Ergebnisse zeitigen.

Die Wirkung des Poehlschen Spermins und der Testikelexstirpation.

Die Behandlung mit Präparaten der männlichen Geschlechtsdrüse, welche von Brown-Séquard (43) vorgeschlagen worden ist, sowie dessen Lehre von der inneren Sekretion, hat den An-

stoß zu zahlreichen Untersuchungen auf dem Gebiete der Biologie und der praktischen Medizin gegeben. Das Studium der diesbezüglichen Literatur erweist, daß die Anzahl der wissenschaftlichen Veröffentlichungen über die Funktionen anderer Drüsen, wie z. B. der Thyreoidea und der Nebenniere, sowie über ihre therapeutische Bedeutung mit jedem Tage anwächst, während über die Bedeutung der Testikeln als Drüsen mit innerer Sekretion wenig geschrieben worden ist, in letzter Zeit sogar die praktische Anwendung von Testikelpräparaten in der Medizin merklich in Verfall gerät. Die meisten Beobachtungen über die Einwirkung der Brown-Séquardschen Emulsion auf den menschlichen Organismus sind in Frankreich angestellt worden; in Rußland hat man meist nach A. Poehl dargestelltes Spermin angewandt, denn das Spermin soll, wie viele meinen, auf den Organismus ebenso einwirken wie die Brown-Séquardsche Emulsion, wobei seine Wirkung eine exaktere und stärkere ist. A. Poehl, der Erfinder des „russischen" Spermins, sieht dasselbe als wesentliches wirkendes Prinzip der Brown-Séquardschen Emulsion an. Die Literatur über die Lehre vom Spermin soll hier nicht genau wiedergegeben werden. Sie findet sich in vollem Umfange in der von A. Poehl redigierten Zeitschrift (44) sowie in besonderen Veröffentlichungen, welche von Poehl (45) und seinen Mitarbeitern [J. Tarchanow (46) u. a.] herausgegeben worden sind. Ich will hier nur einige allgemeine Befunde und Veröffentlichungen über Spermin und überhaupt über die Funktionen der männlichen Geschlechtsdrüsen uud ihre innere Sekretion angeben.

Brown-Séquard führte vom Jahre 1875 an Injektionen einer Emulsion von Testikeln junger Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde unter die Haut alter Hunde aus und erzielte hierbei eine deutlich ausgesprochene Wirkung. Im Jahre 1889 führte er an sich selbst zehn subcutane Injektionen der Emulsion aus und verspürte hiernach einen merkbaren Kräfteaufschwung und erhöhte Arbeitsfähigkeit. Nach Veröffentlichung der Beobachtungen Brown-Séquards erschienen im Laufe mehrerer Jahre, hauptsächlich in Frankreich, zahlreiche Berichte von Ärzten über die wohltätige Wirkung der Emulsion bei verschiedenen nicht nur funktionellen, sondern sogar organischen

Erkrankungen. Fürbringer (47) hat im Jahre 1894 die Zweckmäßigkeit dieser 200000 von 1200 Ärzten bei verschiedenen organischen Leiden ausgeführten Injektionen von Succus testicularis Brown-Séquard stark angezweifelt. Natürlich konnte eine derartige Überschätzung dieser Injektionen nicht lange fortbestehen, und es erwies sich bald, daß dieselben nicht ganz unschädlich sind.

Es entstand deshalb in begreiflicher Weise das Bestreben, aus dem komplizierten und variablen Bestande der Emulsion ihr wirksames Grundprinzip auszuscheiden. Als A. Poehl diese Emulsion untersuchte, fand er außer Proteinen, Nuclein und Lecithin, Fetten, Cholesterin u. a. auch noch Hypoxanthin, Guanin, Adenin, Kreatin und Spermin. Es muß erwähnt werden, daß Charcot und Robin (49) bereits im Jahre 1853 eigenartige Krystalle in der Milz bei Leukämie beschrieben haben, Böttcher aber dieselben aus der Samenflüssigkeit dargestellt hat. Später haben zahlreiche Beobachter diese Krystalle in verschiedenen Körperorganen und im Eiter gesehen. Schreiner (50) hat im Jahre 1878 nachgewiesen, daß diese Krystalle dem phosphorsauren Salze des Spermins, dessen Formel C_2H_5N ist, entsprechen. Im Laboratorium von Parke Davis und Co. (51) haben Versuche im Jahre 1889 erwiesen, daß das physiologische Alkaloidspermin C_2H_5N das wirksame Grundprinzip des Brown-Séquardschen Testikelextraktes bildet. Schreiner, Ladenburg, Abel u. a. nehmen an, daß das Spermin dem Äthylenimin (C_2H_4HN) identisch ist, Kobert (52) aber glaubt, im Spermin das Diäthylenimin oder Piperazin sehen zu müssen. Viele Autoren, wie z. B, Ewald, Fürbringer, Schmidt (53) und namentlich A. Poehl negieren diese Identität. Nach Armand Gautiers (54) Meinung ist das Spermin ein Leukomain. Nach Untersuchungen von A. Poehl entspricht das Spermin der Formel $(C_5H_{12}N_2)_n$ und soll es als Zerfallsprodukt der Leukocyten einen normalen Bestandteil des Organismus sowohl männlicher als auch weiblicher Individuen ausmachen. Poehl fand am meisten Spermin in den Testikeln, sodann in der Vorsteher- und Schilddrüse, im Pankreas und in der Thymus, sowie in Eierstöcken und Milz. Er stellt sein Spermin aus Testikeln von Ochsen und Füllen dar und empfiehlt zur subcutanen Injektion salzsaures Spermin ($C_5H_{14}N_2HCl$) in $2^0/_0$-

Lösung (in zugeschmolzenen Glasampullen), innerlich die Essentia spermini Poehl, eine 4%ige alkoholische Lösung eines aus salzsaurem Spermin und Chlornatrimu bestehenden Doppelsalzes und für Klistiere gleichfalls eine Doppelverbindung mit Chlornatrium. Es muß noch erwähnt werden, daß einige Autoren [Jürgens, Johanson, Majert, Schmidt (55) u. a.] überhaupt kein Spermin aus Testikeln gewinnen konnten. Die Sperminpräparate, welche in den ersten Jahren nach Erfindung des Spermins den Forschern zur Verfügung standen, und die jetzt gebräuchlichen sind nicht ganz identisch. Wenigstens sagt A. Poehl (46) bei Besprechung der Versuche von Tarchanow, welche im Jahre 1891 die antispasmodische Wirkung des Spermins erwiesen haben: „Wie spätere Versuche von Tarchanow ergeben haben, war die antitetanische Wirkung durch einen anderen Körper, welcher im Geleite des Spermins auftritt, bedingt; derselbe stellt einen dem Adrenalin sehr ähnlichen Körper dar.“ Hieraus muß man schließen, daß in früheren Jahren als Poehlsches Spermin zum mindesten ein Gemisch von Spermin mit einem dem Adrenalin nahestehenden Körper injiziert wurde. Soweit ich aus der Sache klug werden konnte, können wir auch jetzt noch nicht von einem chemisch reinen Sperminpräparate reden, denn der Erfinder desselben schreibt: „In der Medizin werden chemisch absolut reine Präparate nicht angewandt und überhaupt kommen sie in der Natur auch nicht vor.“ Soweit mir bekannt, verhalten sich viele Autoren, namentlich in Deutschland [Senator, Fürbringer, Ewald, Baginski, Goldscheider u. a. (56)] der Poehlschen Lehre vom Spermin gegenüber sehr zurückhaltend. A. Poehl hält sein Spermin für den Hauptkatalysator der Oxydationen im Organismus. Im Jahre 1906 schrieb er (46): „Meine Behauptung, welche ich vor zehn Jahren aufgestellt habe, daß nämlich das Spermin als Ferment oder Enzym einer der Funktionen der Zellenatmung, und zwar der intracellulären Oxydation anzusehen ist, kann ich gegenwärtig auf Grund sämtlicher neueren Beobachtungen in vollem Umfange aufrechterhalten; .... ich muß dem Spermin in sämtlichen Oxydationsprozessen des Organismus eine Rolle zusprechen.“ Nach Poehls Meinung kann man das Ergebnis der Sperminwirkung nur in denjenigen Fällen nachweisen, „in denen die innere Atmung beeinträchtigt ist, denn der normale

Organismus bedarf keiner künstlichen Einverleibung eines Katalysators". Nach Poehls Angaben wirkt das Spermin katalytisch, ohne sich während der Reaktion zu verändern, und spielt bei den physiologischen Oxydationsprozessen eine sehr wichtige Rolle; es bildet das hauptsächlich wirkende Prinzip im Kampfe mit der Autointoxikation durch nicht genügend oxydierte Stoffwechselprodukte, einen Schutz des Organismus im Kampfe mit fremdartigen Infektionen, indem es die Immunität erhöht usw. „Das die Immunität schaffende Prinzip muß nicht in einem temporär auftretenden Antitoxin, sondern in einem normalen Blutbestandteile gesucht werden." Diese Auszüge genügen, um zu beweisen, wie einfach und einförmig A. Poehl sich die kompliziertesten und mannigfachen Prozesse der Biologie und Pathologie des Organismus vorstellt. Poehl empfiehlt die Anwendung des Spermins bei sehr verschiedenen Erkrankungen, und er hat in seiner Zeitschrift sowie in besonderen Veröffentlichungen eine ziemlich umfangreiche diesbezügliche Literatur zusammengebracht.

Von experimentellen Forschungen, die die Wirkung des Spermins auf den tierischen Organismus nachweisen sollten, mögen diejenigen von Tarchanow (45, 46) erwähnt werden: sie beziehen sich sowohl auf gesunde als auch auf kranke Tiere mit durchschnittenem Rückenmark, unter Chloroformnarkose, bei Vergiftung mit Morphium, Spermin u. a. m. Während auf kranke Tiere das Spermin eine deutliche tonische Wirkung ausübte, erwies es sich für gesunde Tiere als ganz indifferent und sogar bei intravenöser Einverleibung großer Dosen als ganz unschädlich. Über die Einwirkung des Spermins auf das Blut haben A. Loewy und Richter (57), Epifanow (58) u. a. Untersuchungen angestellt. Die Wirkung des Spermins auf Herz und Blutgefäße haben Tarchanow, Kuljabko (59), Kakowsky (60) und Prushinsky (61) studiert.

Ich habe nur eine Veröffentlichung, welche unmittelbar zu meinen Untersuchungen in Beziehung steht, ausfindig machen können: Loewy und Richter (62) nämlich haben den Gasstoffwechsel unter Einwirkung der Kastration und der Behandlung Kastrierter mit Oophorin, Testikelpräparaten und Spermin studiert. Der Gasstoffwechsel wurde an tracheotomierten und angebundenen Tieren untersucht. Ein jeder

Versuch dauerte eine Stunde, wobei die Quantität der Luft und des resorbierten O_2 bestimmt wurde.

Bei dieser Versuchsanordnung fanden die Autoren, daß bei Weibchen die Kastration den Gasstoffwechsel herabdrückt. Spermin und Testikelsubstanz erhöhen bei kastrierten Tieren den verminderten Gasstoffwechsel nur um ein geringes, während das innerlich eingegebene Oophorin ihn zuweilen sogar bis über die Norm erhöht (Tab. IV). Bei nicht kastrierten Tieren ruft das Oophorin keine derartige Veränderung des Gasstoffwechsels hervor; auf Tab. III A kann man sogar eine geringe Verminderung desselben gewahren. Die Testikelexstirpation vermindert bei Männchen den Gasstoffwechsel, und die Behandlung mit Spermin erhöht ihn nur um ein geringes, jedoch bei weitem nicht bis zur Norm. Aus Tab. VI ersieht man, daß bei normalen Männchen die innerliche Einverleibung von Oophorin die Menge des resorbierten O_2 etwas vermindert.

In der Frage nach der Wirkung der Kastration verfügen wir über ein umfangreiches Beobachtungsmaterial an kastrierten Haustieren sowie an Ennuchen des Ostens und russischen Skopzen. Über Pferde, die gewöhnlich nicht in früher Kindheit kastriert werden, und Arbeitsrinder wissen wir, daß die Kastration in ihrem Organismus keine besonderen Veränderungen ausübt. Sogar in bezug auf die übermäßige Fettansammlung (Verminderung der Oxydationsprozesse) ist bekannt, daß Pferde und Rinder magerer sind als wie Hengste und Ochsen. Bilharz, Kremer und White fanden die Ennuchen mager. Liprandi (64), Melnikow (65) und Pelikan (66), welche das Skopzentum studiert haben, hoben hervor, daß die Kastration Erwachsener keine besonderen Veränderungen in ihrem Organismus hervorruft und daß nur die in früher Kindheit vorgenommene Kastration die physische, intellektuelle und moralische Konstitution der Kastrierten in merklicher Weise beeinflußt. Augenscheinlich wirkt im letzteren Falle nicht die fehlende innere Sekretion der Testikeln, sondern der Umstand, daß den Kastraten die überaus wichtige Funktion der Geschlechtsdrüsen fehlt. Mit einem Wort beweisen sämtliche Beobachtungen an kastrierten Tieren und Menschen durchaus nicht, daß die innere Testikelsekretion für den tierischen Organismus eine vitale Bedeutung hat. Hierzu kommt noch, daß auch die Vorsteherdrüse bei

Kastraten atrophiert, daß also auch von einer Substitution der Tätigkeit der entfernten Testikeln durch diejenige der Vorsteherdrüse nicht die Rede sein kann.

In meinen Versuchen benutzte ich das Spermin und nicht die Brown-Séquardsche Emulsion, und zwar deshalb, weil, wie sämtliche Autoren bestätigen, die Emulsion schwächer wirkt als das Spermin und weil in Rußland zu Heilzwecken hauptsächlich Poehlsches Spermin verwandt wird. Zur Injektion diente in Glasampullen geliefertes Sperminum Poehl, innerlich — die Essentia Spermini Poehl. Die Testikeln wurden ohne Chloroform, fast ganz ohne Blutverlust exstirpiert, und diese Operation ertrugen die Kaninchen ganz leicht, sie nahmen Futter und Trank nach wie vor der Operation regelmäßig zu sich.

Versuche mit Spermineinverleibung.

20. Graues Männchen, wird am 7./III. 1907 in den Käfig gesetzt. 10./III. Gew. 2280 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert; 400,0 verdünnter Harn. Phenol (Ph) = 0,276. 15./III. Im Harne kein Ph; Gew. 2300 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 17./III. 300,0 verdünnter Harn; Ph = 0,264. Am 17./III., 20./III. und 21./III. werden 0,5 Spermin subcutan injiziert. 20./III. 1,0 Benzol subcutan; Gew. am 20./III. 2140 g. 24./III. 560,0 verdünnten Harns; Ph = 0,314. Am 24./III. und 25./III. 1,0 Spermin subcutan; Gew. am 24./III. 2040 g; 1,0 Benzol subcutan. 27./III. Gew. 1970 g; 400 verdünnten Harns; Ph = 0,33. Am 27./III., 29./III. und 30./III. werden 2,0 Essentia Spermini innerlich eingegeben. 29./III. Gew. 1973 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 1./IV. 400 verdünnten Harns; Ph = 0,29. 21./IV. Gew. 2000 g; im Harn kein Ph. Das Tier wird aus dem Käfig entlassen.

21. Gelbes Männchen, wird am 30./III. 1907 in den Käfig gesetzt. Gew. 2610 g. I./IV. Gew. 2570 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 4./IV. Im Laufe von 3 Tagen 240 verdünnten Harns; Ph = 0,257. 3./IV. 0,5 Spermin subcutan injiziert, am 4./IV. 0,8, 5./IV. 1,0 und 6./IV. 1,5. Am 4./IV. 1,0 Benzol subcutan. 8./IV. Gew. 2410 g; 300 verdünnten Harns aufgefangen; Ph = 0,319. Am 8./IV., 9./IV. und 10./IV. 1,5 Spermin subcutan injiziert. Am 8./IV. 1,0 Benzol subcutan. 10./IV. Im Laufe

von 2 Tagen sind 200 Harn gesammelt worden; Ph = 0,42. 11./IV. Gew. 2380 g; 1,0 Benzol und 2,0 Spermin subcutan injiziert. 14./IV. Gew. 2175 g; Harnmenge 300; Ph = 0,39. 15./IV. Im Harn kein Ph. Das Tier wird aus dem Käfig entlassen.

22. Graues Männchen, wird am 3./IV. 1907 in den Käfig gesetzt. 4./IV. Gew. 2730 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 7./IV. 300 verdünnten Harns; Ph = 0,279. 7./IV. Gew. 2740 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 10./IV. 200 verdünnten Harns; Ph = 0,263. Am 10./IV., 11./IV. und 12./IV. 1,0 Spermin innerlich eingegeben. 11./IV. im Harn kein Ph; Gew. 2750 g; 1,0 Benzol subcutan injiziert. 14./IV. 300 verdünnten Harns; Ph = 0,312. 14./IV. Gew. 2293 g; Diarrhöe; per os 2,0 Spermin eingegeben und 1,0 Benzol subcutan injiziert. 17./IV. Gew. 2115 g; im Laufe von 3 Tagen 600 verdünnten Harns; Ph = 0,225. 18./IV. Im Harn kein Ph. Das Tier wird krank aus dem Käfig entlassen.

23. Graues Männchen, Gew. 2182 g; Temp. 38,9°, am 3./III. 1907 in den Käfig gesetzt. 4./III. Im Harn kein Ph. 1,0 Benzol subcutan injiziert. 6./III. Harnmenge 180; Ph = 0,18. $\frac{N^0}{N} = \frac{3,93}{4,23} = 0,90$. 7./III. Harnmenge 110; Ph = 0,008. Gesamtphenolmenge (Ph t) = 0,188. 11./III. Im Harn kein Ph. Gew. 2268 g; Temp. 38,8°; 1,0 Spermin subcutan. 12./III. am Morgen 1,0 Spermin, um 2 Uhr nachmittags 1,0 Benzol und am Abend wieder 1,0 Spermin subcutan injiziert. 13./III., 14./III. und 15./III. 1,0 Spermin subcutan injiziert 15./III. Harnmenge 160. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,47}{2,9} = 0,85$; Ph = 0,232. 17./III. 1,0 Spermin subcutan. 18./III. Gew. 2262 g; Temp. 39,4°; 1,0 Spermin und ebensoviel Benzol subcutan einverleibt. 22./III. Harnmenge 150; $\frac{N^0}{N} = \frac{2.47}{2,95} = 0,84$; Ph = 0,223. 24./III. Harnmenge 140; Ph = 0,0025; Ph t = 0,226. 24./III. aus dem Käfig befreit. 1./IV. wieder hineingesetzt. Gew. 2082 g; Temp. 39°. 1,0 Benzol subcutan. 3./IV. Harnmenge 150. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,03}{1,19} = 0,90$; Ph = 0,1. 5./IV. Harnmenge 150; Ph = 0,069; Ph = 0,169. 5./IV. und 6./IV. vom Rektum aus 0,2 Thyreoidin einverleibt.

Am 6./IV. und 7./IV. innerlich je 0,3 Thyreoidin in Wasser eingegeben. 8./IV. Harnmenge 140. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,85}{2,08} = 0,79$. 10./IV. Gew. 2061 g; Temp. 39,1°. Innerlich 0,25 Thyreoidin und subcutan 1,0 Benzol einverleibt. 11./IV. 0,25 Thyreoidin eingegeben. 13./IV. Gew. 1880 g; Temp. 39,3°. Harnmenge 150; Ph = 0,285. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,8}{2,09} = 0,75$. 15./IV. Harnmenge 150; Ph in Spuren. 15./IV. 0,3 Thyreoidin per os eingegeben. 19./IV. Gew. 1700 g; Temp. 39,4°. 1,0 Benzol subcutan. 19./IV. und 20./IV. innerlich 0,3 Thyreoidin eingegeben. 21./IV. Harnmenge 110; Ph = 0,17, Diarrhöe; scheues Benehmen; Schüttelfrost. 22./IV. Harnmenge im Laufe von 24 Stunden 100 g; Ph = 0,014, Ph t = 0,184. 21./IV. bis 23./IV. kein Thyreoidin. 24./IV. Gew. 1575 g; Temp. 39,4°. Sieht etwas munterer aus. Innerlich 0,2 Thyreoidin eingegeben und 1,0 Benzol subcutan injiziert. 25./IV. 0,2 Thyreoidin einverleibt. 28./IV. Gew. 1500 g, Temp. 39,7°; Ph = 0,152. 27./IV. und 28./IV. 0,5 Spermin subcutan einverleibt. 29./IV. Gew. 1620 g; Temp. 39,2°. 1,0 Benzol und 0,5 Spermin subcutan. 30./IV. und 1./V. noch 0,5 Spermin subcutan. 2./V. Gew. 1700 g; Temp. 38,9°. Harnmenge 200. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,37}{2,76} = 0,82$. Ph = 0,121. 3./V. 1,0 Spermin subcutan; Diarrhöe. 4./V. Gew. 1725 g; Temp. 38,7°; in gleicher Zeit 1,5 Spermin und 1,0 Benzol injiziert. Das Tier verschied 5 Minuten nach der Injektion. Obduktion: Lebervenen blutstrotzend; Nebennieren anämisch; Schilddrüse vergrößert, hyperämisch.

24. Weißes Männchen von 1857 g; Gew. wird bei 39,5° Körpertemperatur am 10./IV. 1904 in den Käfig gesetzt. Im Harn kein Ph; es wird 1,0 Benzol subcutan injiziert. 13./IV. Harnmenge 100. $\frac{N^0}{N} = \frac{3,49}{3,87} = 0,90$; Ph = 0,225. 15./IV. Harnmenge 60; Ph in Spuren; Gew. 1780 g; Temp. 39,3°. Subcutane Injektion von 0,5 Spermin und 1,0 Benzol. Am 16./IV. und 17./IV. werden 0,3 Spermin subcutan injiziert. 17./IV. Harnmenge 60. $\frac{N^0}{N} = \frac{0,71}{0,84} = 0,84$; Ph = 0,197. 19./IV. Harnmenge 40; Ph = 0,023, Ph t = 0,220. 19./IV. Gew. 1760 g; T. 39,1°. Es werden 0,5 Spermin und 1,0 Benzol subcutan einverleibt.

20./IV. und 21./IV. subcutane Injektion von 0,2 Spermin. 21./IV. Harnmenge 60; Ph = 0,132. 24./IV. Harnmenge 90; Ph = 0,01; Ph = 0,142. 24./IV. Gew. 1572 g; 38,8°. Subcutane Injektion von 0,3 Spermin und 1,0 Benzol. 29./IV. Harnmenge 120; Ph = 0,122. 29./IV. Gew. 1480 g; Temp. 38,5°. 1,0 Spermin und 1,0 Benzol subcutan injiziert. Per os wird 0,1 Thyreoidin gereicht, ebenso am 2./V. 4./V. Harnmenge 80. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,73}{2,03} = 0,85$; Ph = 0,202. 4./V. Gew. 1420 g; Temp. 38,9°. Das Tier ist krank. Es werden 1,0 Benzol subcutan injiziert und 0,3 Thyreoidin per os gereicht. 5./V. und 6./V. je 0,3 Thyreoidin eingegeben. 6./V. Harnmenge 40. $\frac{N^0}{N} = \frac{0,70}{0,84} = 0,83$. Ph = 0,09. 8./V. Harnmenge 120; Ph fehlt. 8./V. sehr krank, Diarrhöe; Gew. 1170 g; Temp. 39,4°. 1,0 Benzol subcutan. 8./V., 9./V. und 10./V. je 0,3 Thyreoidin innerlich. 10./V. Harnmenge 50. $\frac{N^0}{N} = \frac{0,44}{0,84} = 0,52$. Ph = 0,04. Am Abend Exitus. In der Harnblase fanden sich 25 Harn. Ph = 0,0017; Ph t = 0,057. Sektionsbefund: schlaffe, stark hyperämische Leber und unveränderte Milz; Schilddrüse vergrößert und hyperämisch; beide Testikeln klein und anämisch.

25. Graues Männchen, von 1830 g Körpergewicht, wird am 9./IV. 1904 in den Käfig gesetzt; Temp. 38,9°. 13./IV. Harnmenge 140. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,87}{2,02} = 0,93$. 18./IX. Gew. 1824 g; Temp. 38,8°. Im Laufe von 4 Tagen 300 verdünnten Harns vom spezifischen Gewicht 1014 aufgefangen; Gefrierpunkt — 0,95. Für den Infusionsversuch wurde ein 2490 g wiegendes Kaninchen verwandt; es ging nach 12 Minuten ein, nachdem ihm 68 Harn injiziert worden waren. Toxizität = 2,47 T. Der urotoxische Koeffizient beträgt 1,35. 20./IX. Gew. 1820 g; Temp. 38,8°. Im Laufe von 2 Tagen sind 200 verdünnten Harns vom spezifischen Gewicht 1013 aufgefangen worden; Gefrierpunkt — 0,94. Zum Infusionsversuche diente ein 1512 g wiegendes Kaninchen, welches nach 7 Minuten einging; es waren 52 Harn injiziert worden; die Toxizität des Harns betrug 2,54 T, ihr urotoxischer Koeffizient 1,39. Vom 20./IX. an bis zu seinem Todestage, dem 2./X., bekam das Tier täglich 16 Tropfen Poehlscher Sperminessenz

ein. 28./IX. Gew. 1512 g; Temp. 38,4°. Im Laufe von 2 Tagen wurden 205 verdünnten Harns vom spezifischen Gewicht 1014 aufgefangen; Gefrierpunkt — 1,17. Zum Infusionsversuche diente ein 2095 g wiegendes Kaninchen, welches im Laufe von 5 Minuten einging, nachdem ihm 52 Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 3,28 T, urotoxischer Koeffizient 2,17. 30./IX. Gew. 1375 g; Temp. 37,9°. Das Tier sieht krank aus. Im Laufe von 2 Tagen wurden 190 Harn vom spezifischen Gewicht 1013 aufgefangen; Gefrierpunkt — 0,99. Zum Infusionsversuche diente ein 1375 g wiegendes Kaninchen, welches nach 30 Minuten einging, nachdem ihm 29 Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 3,36, urotoxischer Koeffizient 2,44. Das Tier war vom 29./IX. an krank und verendete am 2./X.

26. Graues Männchen wird am 14./II. 1907 in den Käfig gesetzt. 16./II. Gew. 1345 g; 38,8°; kommt unter die Glocke und wird nach 24 Stunden herausgenommen; Gew. 1360 g; 38,5°. Die Uhr haben 300 l Luft passiert; CO_2 durch Wägung bestimmt 46,65; im ganzen sind 49,66 CO_2 ausgeschieden worden; vom O_2 sind 32,32 resorbiert worden. Die der Glocke entnommenen Luftportionen enthielten: 1. $CO_2 = 6,5\%$, $O_2 = 13,74\%$; 2. $CO_2 = 7,2\%$, $O_2 = 13,28\%$; 3. $CO_2 = 7\%$, $O_2 = 13,5\%$; im Mittel $CO_2 = 6,9\%$, $O_2 = 13,5\%$. Atmungskoeffizient $49,66 : 33,7 = 25,2 : 23,5 = 1,07$; auf 1 kg Körpergewicht $18,6 : 17,3 = 1,07$. Am 24./II. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt, sein Gewicht beträgt 1380 g; 38,7°. Nach 24 Stunden wird es wieder herausgenommen; Gew. 1360 g; 38,5°. Die Uhr haben 318 l reduzierter Luft passiert. CO_2 durch Wägung bestimmt 46,45, im ganzen CO_2 ausgeschieden 49,38. O_2 verbraucht 33,69. In den Luftportionen, welche aus der Glocke entnommen worden waren, fanden sich: 1. $CO_2 = 6,6\%$, $O_2 = 13,9\%$; 2. $CO_2 = 6,9\%$, $O_2 = 13,6\%$; 3. $CO_2 = 6,55\%$, $O_2 = 13,52\%$; im Mittel $CO_2 = 6,68\%$, $O_2 = 13,7\%$. Atmungskoeffizient $49,38 : 33,6 = 25,0 : 23,5 = 1,06$; pro Kilo $18,2 : 17,1 = 1,06$. Am 25./II. und 26./II. werden 0,5 Spermin subcutan injiziert, am 27./II. um 3 Uhr nachmittags 1,0 Spermin. Um 5 Uhr wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 1360 g; 38,8°), nach 24 Stunden wieder herausgenommen; Gew. 1295 g; 38,9°. Die Uhr hatten 327 l reduzierter Luft passiert. CO_2 durch Wägung bestimmt 47,7;

im ganzen CO_2 ausgeschieden 50,37. Vom O_2 sind 35,62 resorbiert worden. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten: 1. $CO_2 = 7{,}28\%$, $O_2 = 13{,}2\%$; 2. $CO_2 = 6{,}83\%$, $O_2 = 13{,}66\%$; 3. $CO_2 = 6{,}16\%$, $O_2 = 13{,}58\%$; im Mittel $CO_2 = 6{,}75\%$, $O_2 = 13{,}48\%$. Atmungskoeffizient 50,37 : 35,62 = 25,5 : 25,0 = 1,02; pro Kilo Körpergewicht 19,2 : 18,9 = 1,02. Am 1./III. 1,5 Spermin subcutan injiziert; Gew. 1340 g; 39°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt und nach 24 Stunden herausgenommen; Gew. 1320 g; 38,6°. Die Uhr haben 321 l verbrauchter Luft passiert. CO_2 durch Wägung bestimmt 44,6; im ganzen ausgeschieden 47,68. Resorbierte Menge $O_2 = 38{,}38$. Die der Luftglocke entnommenen Luftportionen enthielten: 1. $CO_2 = 1\%$, $O_2 = 12{,}75\%$; 2. $CO_2 = 6{,}87\%$, $O_2 = 12{,}86\%$; 3. $CO_2 = 6{,}75\%$, $O_2 = 12{,}78\%$; im Mittel $CO_2 = 6{,}87\%$, $O_2 = 12{,}79\%$. Atmungskoefizient 47,68 : 38,38 = 24,2 : 26,8 = 0,9; pro Kilo Körpergewicht 18,2 : 20,0 = 0,9. Am 2./III. 1,0 Spermin, am 3./III. 2,0 Spermin subcutan injiziert. 3./III. Gew. 1280 g; 39,1°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt und nach 24 Stunden wieder herausgenommen; Gew. 1290 g; 39°. Die Uhr haben 402 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte $CO_2 = 44{,}3$, im ganzen ausgeschiedene $CO_2 = 46{,}68$. Resorbierte Sauerstoffmenge 33,9. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich: 1. $CO_2 = 6{,}0\%$, $O_2 = 14{,}3\%$; 2. $CO_2 = 5{,}84\%$, $O_2 = 14{,}8\%$; 3. $CO_2 = 5{,}28\%$, $O_2 = 15{,}9\%$; im Mittel $CO_2 = 5{,}7\%$, $O_2 = 15\%$. Atmungskoeffizient 46,68 : 33,9 = 23,7 : 23,7 = 1,0; pro Kilo Körpergewicht 18,4 : 18,4 = 1,0. Da das Tier deutliche Intoxikationserscheinungen offenbarte, wurde ihm am 4./III. und 5./III. kein Spermin injiziert. Am 5./III. kommt es unter die Glocke. Gew. 1275 g; 38,6°. Nach 24 Stunden wird es wieder herausgenommen; Gew. 1280 g; 38,2°. Die Uhr hatten 348 l reduzierter Luft passiert. CO_2 durch Wägung bestimmt 41,8; im ganzen ausgeschieden 44,37; verbrauchte Sauerstoffmenge 30,91. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten: 1. $CO_2 = 5{,}81\%$, $O_2 = 15{,}24\%$; 2. $CO_2 = 5{,}77\%$, $O_2 = 14{,}74\%$; 3. $CO_2 = 5{,}71\%$, $O_2 = 14{,}32\%$; im Mittel $CO_2 = 5{,}76\%$, $O_2 = 14{,}8\%$. Atmungskoeffizient 44,37 : 30,91 = 22,5 : 31,6 = 0,104; pro Kilo Körpergewicht 17,6 : 16,9 = 1,04.

27. Schwarzes Männchen mit weißen Pfoten. Körpergewicht 1277 g. Es wird am 24./IV. 1905 in den Käfig, am 26./IV. unter die Glocke gesetzt; Gew. 1280 g; nach 24 Stunden wird das Tier aus der Glocke genommen; Gew. 1294 g. Die Uhr haben 396 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 33,44; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 35,033. Resorbierte O_2-Menge 27,27. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich: 1. $CO_2 = 4{,}21\,^0/_0$, $O_2 = 16{,}05\,^0/_0$; 2. $CO_2 = 4{,}59\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}9\,^0/_0$; 3. $CO_2 = 4{,}4\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}95\,^0/_0$; im Mittel $CO_2 = 4{,}4\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}97\,^0/_0$. Atmungskoeffizient $35{,}03 : 27{,}27 = 17{,}8 : 19{,}0 = 0{,}94$; pro Kilo Körpergewicht $13{,}8 : 14{,}8 = 0{,}94$. Am 3./V. kommt das Tier wieder unter die Glocke; Gew. 1290 g. Nach 24 Stunden wird es wieder herausgenommen; Gew. 1305 g. Die Uhr hatten 474 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 32,75; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 34,5. Verbrauchte O_2-Menge 28,05. Die der Glocke entnommenen Luftproben enthielten: 1. $CO_2 = 3{,}7\,^0/_0$, $O_2 = 16{,}25\,^0/_0$; 2. $CO_2 = 3{,}4\,^0/_0$, $O_2 = 16{,}75\,^0/_0$; im Mittel $CO_2 = 3{,}55\,^0/_0$, $O_2 = 16{,}5\,^0/_0$. Atmungskoeffizient $34{,}5 : 28{,}05 = 17{,}5 : 19{,}9 = 0{,}89$; pro Kilo Körpergewicht $13{,}4 : 15{,}3 = 0{,}89$. Vom 4./V. bis zum 10./V. bekam das Tier täglich 20 Tropfen Sperminessenz ein. 10./V. Gew. 1254 g. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt. Als es nach 24 Stunden herausgenommen wird, wiegt es 1266 g. Die Uhr haben 298 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,01; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,27; resorbierte O_2-Menge 25,17. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich: 1. $CO_2 = 5{,}33\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}05\,^0/_0$; 2. $CO_2 = 5{,}19\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}02\,^0/_0$; 3. $CO_2 = 5{,}07\,^0/_0$, $O_2 = 14{,}99\,^0/_0$; im Mittel $CO_2 = 5{,}2\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}02\,^0/_0$. Atmungskoeffizient $33{,}27 : 25{,}17 = 16{,}9 : 17{,}6 = 0{,}96$; pro Kilo Körpergewicht $13{,}4 : 14{,}0 = 0{,}96$. Am 11./V., 12./V. und 13./V. werden je 2,0 Spermin subcutan injiziert. Am 13./V. kommt das Tier unter die Glocke; Gew. 1278 g; am 14./V. wird es wieder herausgenommen; Gew. 1280 g. Es haben 401 l reduzierter Luft die Uhr passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 34,45; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 36,02. Resorbierte O_2-Menge 29,91. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich: 1. $CO_2 = 5{,}42\,^0/_0$, $O_2 = 15{,}85\,^0/_0$; 2. $CO_2 = 3{,}63\,^0/_0$,

$O_2 = 15{,}31\,\%$; im Mittel $CO_2 = 4{,}5\,\%$, $O_2 = 15{,}58\,\%$. Atmungskoeffizient 36,02 : 29,91 = 18,3 : 20,9 = 0,88; pro Kilo Körpergewicht 14,3 : 16,3 = 0,88. Am 14./V., 15./V. und 16./V. werden je 2,0 Spermin subcutan injiziert. Am 16./V. kommt das Tier unter die Glocke; Körpergewicht 1253 g. Nach 24 Stunden wird es herausgenommen; Gew. 1259 g. Die Uhr haben 431 l reduzierter Luft passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 32,89; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 34,7. Verbrauchte O_2-Menge 31,85. In den der Glocke entnommenen Luftproben fanden sich: 1. $CO_2 = 5{,}26\,\%$, $O_2 = 16{,}8\,\%$; 2. $CO_2 = 3{,}48\,\%$, $O_2 = 14{,}5\,\%$; 3. $CO_2 = 3{,}65\,\%$, $O_2 = 15{,}5\,\%$; im Mittel $CO_2 = 4{,}13\,\%$, $O_2 = 15{,}6\,\%$. Atmungskoeffizient 34,7 : 31,85 = 17,6 : 22.3 = 0,80; pro Kilo Körpergewicht 14,2 : 17,7 = 0,80. Am 17./V. wurden dem Tiere beide Testikeln exstirpiert, und am 18./V. wurde es unter die Glocke gesetzt; Gew. 1217 g. Nach 24 Stunden wird es wieder herausgenommen; Gew. 1200 g. Die Uhr haben 396 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,35; im ganzen ausgeschiedene Kohlensäuremenge 33,59. Verbrauchte O_2-Menge 30,81. Atmungskoeffizient 35,59 : 30,81 = 17,0 : 21,5 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 14,0 : 17,8 = 0,79. Am 20./V. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 1211 g); nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1185 g). Die Uhr haben 385 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 32,87; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 35,23. Verbrauchte O_2-Menge 32,59. Atmungskoeffizient 35,23 : 32,59 = 17,9 : 22,8 = 0,78; pro Kilo Körpergewicht 14,9 : 19,0 = 0,78. Am 23./V. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 1196 g); und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1209 g). Die Uhr haben 483 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 33,55; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 35,52. Verbrauchte O_2-Menge 31. Atmungskoeffizient 35,52 : 31,0 = 18,0 : 22,7 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 15,0 : 18,9 = 0,79. Am 26./V. kommt das Tier wieder unter die Glocke (Gew. 1207 g); und wird nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1218 g). Die Uhr haben 431 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,29; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 38,13; verbrauchte O_2-Menge 30,8. Atmungskoeffizient 39,13 : 30,8 = 19,3 : 21,5 = 0,90; pro Kilo

Körpergewicht 15,9 : 17,7 = 0,90. Am 1./VI. kommt das Tier von neuem unter die Glocke; Gew. 1190 bis 1196 g. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 35,68. Verbrauchte Luftmenge 458 l. Atmungskoeffizient 37,76 : 27,34; dem Volumen nach 19,1 : 19,1 = 1,0; pro Kilo Körpergewicht 16,0 : 16,0 = 1,0. Am 2./VI. wird bei dem Tiere eine Scrotalhernie konstatiert und wird deßhalb aus dem Käfig befreit.

28. Im Wachstum befindliches junges Weibchen von 832 g Körpergewicht, wird am 18./V. 1904 unter die Glocke gesetzt und nach 24 Stunden herausgenommen; Gew. 836 g. Die Uhr haben 391 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 30,73; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,11. Verbrauchte O_2-Menge 26,74. Atmungskoeffizient 33,11 : 26,74 = 16,8 : 18,7 = 0,90; pro Kilo Körpergewicht 20,0 : 22,4 = 0,90. Das Tier wird am 19./V. unter die Glocke gesetzt (Gew. 846 g); und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 744 g). Die Uhr haben 345 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 30,22; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 32,87; verbrauchte O_2-Menge 26,57. Atmungskoeffizient 32,87 : 26,57 = 16,7 : 18,6 = 0,90; pro Kilo Körpergewicht 19,4 : 21,6 = 0,90. Am 20./V., 21./V. und 22./V. werden dem Tiere je 10 Tropfen Spermin innerlich eingegeben. Am 22./V. wird es unter die Glocke gesetzt (Gew. 888 g); und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 924 g). Die Uhr haben 417 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 38,7; verbrauchte O_2-Menge 36,7. Atmungskoeffizient 38,69 : 36,7 = 19,5 : 25,6 = 0,76; pro Kilo Körpergewicht 20,0 : 27,2 = 0,76. Am 26./V., 27./V. und 28./V. bekommt das Tier je 10 Tropfen Sperminessenz ein. Am 28./V. wird es unter die Glocke gesetzt (Gew. 955 g); und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 977 g). Die Uhr haben 437 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,78; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 38,89; verbrauchte O_2-Menge 32,7. Atmungskoeffizient 38,89 : 35,7 = 19,7 : 25,0 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 20,4 : 25,9 = 0,79. Am 29./V. und 30./V. werden dem Tiere je 20 Tropfen Sperminessenz eingegeben. Am 30./V. wird es unter die Glocke gesetzt (Gew. 977 g); und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1002 g). Die Uhr haben

451 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,82; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 39,24. Verbrauchte O_2-Menge 35,88. Atmungskoeffizient 39,24 : 35,88 = 19,9 : 25,0 = 0,8; pro Kilo Körpergewicht 20,0 : 25,4 = 0,8. Am 31./V. und 1./VI. werden dem Tiere je 30 Tropfen Sperminessenz eingegeben. Am 1./VI. wird es unter die Glocke gesetzt (Gew. 995 g); und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1017 g). Die Uhr haben 572 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,25; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 38,45. Verbrauchte O_2-Menge 37,1. Atmungskoeffizient 38,45 : 37,1 = 19,5 : 25,9 = 0,78; pro Kilo Körpergewicht 19,4 : 25,7 = 0,78. Am selben Tage wird das Tier aus dem Käfig befreit.

29. Graues Männchen wird am 9./II. 1904 in den Käfig gesetzt. Am 14./II. kommt es unter die Glocke (Gew. 970 g) und wird nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 955 g). Die Uhr haben 225 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 28,13, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 31,76; verbrauchte O_2-Menge 26,1. Atmungskoeffizient 31,76: 26,1 = 16: 18,2 = 0,88, pro Kilo Körpergewicht 16,4 : 18,6 = 0,88. Am 16./II. und 17./II. bekam das Tier je 10 Tropfen, am 18./II. 15 Tropfen Sperminessenz ein. Es wurde am 18./II. unter die Glocke gesetzt (948 g) und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 922 g). Die Uhr hatten 202 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 30,2, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,67. Verbrauchte O_2-Menge 31,04. Atmungskoeffizient 33,67 : 31,04 = 17,1 : 21,7 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 18,3: 23,2 = 0,79. Am 19./II. wurden 25 Tropfen, am 20./II. und 21./II. je 20 Tropfen Sperminessenz eingegeben. Am 21./II. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 930 g) und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 900 g). Die Uhr haben 211 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,07, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 35,2. Verbrauchte O_2-Menge 32,0. Atmungskoeffizient 35,2: 32,0 = 17,9: 22,4 = 0,80; pro Kilo Körpergewicht 19,5: 24,5 = 0,70. Am 22./II. werden 10, am 23./II. 40 Tropfen Sperminessenz eingegeben. Am 23./II. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 948 g) und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 908 g). Die Uhr haben 468 l redu-

zierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 35,08, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 37,6; verbrauchte O_2-Menge 34,3. Atmungskoeffizient 37,6 : 34,3 = 19,0 : 24,0 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 20,5 : 26,9 = 0,79. Am 24./II. werden 1,5 Spermin subcutan injiziert und wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 900 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gewicht 920 g). Die Uhr haben 257 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 38,05, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 42,11; verbrauchte O_2-Menge 36,19. Atmungskoeffizient 42,11 : 36,19 = 21,4 : 25,3 = 0,84; pro Kilo Körpergewicht 23,5 : 28,0 = 0,84 g. Vom 25./II. bis zum 17./III. wurde dem Tiere nichts einverleibt. Am 14./III. wurde es unter die Glocke gesetzt (Gew. 1005 g) und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 995 g). Die Uhr hatten 174 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,91, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 39,24; verbrauchte O_2-Menge 27,2. Atmungskoeffizient 39,22 : 27,2 = 20,0 : 19,0 = 1,05; pro Kilo Körpergewicht 20,0 : 19,0 = 1,05. Am 17./III. wird das Tier von neuem unter die Glocke gesetzt (Gew. 970 g) und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 960 g). Reduzierte Luftmenge 423 l. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 35,54; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 37,6; verbrauchte O_2-Menge 25,9. Atmungskoeffizient 37,6 : 25,9 = 19,0 : 17,4 = 1,09; pro Kilo Körpergewicht 19,9 : 18,04 = 1,09. Das Tier wird aus dem Käfig befreit.

30. Buntes Weibchen, wird am 10./II. in den Käfig, am 17./II. unter die Glocke gesetzt (Gew. 1005 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 975 g). Die Uhr haben 242 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,34; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 34,8, verbrauchte O_2-Menge 27,1. Atmungskoeffizient 34,8 : 27,1 = 17,7 : 19,0 = 0,93; pro Kilo Körpergewicht 17,9 : 19,1 = 0,93. Am 22./III. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 957 g) und nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 943 g). Durch die Uhr sind 334 l Luft gesogen worden. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 30,68; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,27, verbrauchte O_2-Menge 26,63. Atmungskoeffizient 33,27 : 26,63 = 16,9 : 18,9 = 0,90; pro Kilo Körpergewicht 17,8 : 19,5 = 0,90. Am 24./II. werden um 3 Uhr nachm. 0,5, um 6 Uhr

abends 1,0 Spermin subcutan injiziert, hierauf wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 937 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 938 g). Die Uhr haben 505 l passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 32,01, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,75, verbrauchte O_2-Menge 33,65, Atmungskoeffizient 17,1:23,5 = 0,73; pro Kilo Körpergewicht 18,2:25,0 = 0,73. Bis zum 1./III. wurde dem Tiere nichts einverleibt, am 1./III., 3./III. und 4./III. aber wurden ihm je 2,0 Spermin subcutan injiziert. Am 4./III. kam es unter die Glocke (Gew. 920 g), nach 24 Stunden wurde es wieder herausgenommen (Gew. 928 g). Die Uhr hatten 353 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,73, im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,38. Verbrauchte O_2-Menge 30,81. Atmungskoeffizient 33,38 : 30,81 = 16,9 : 21,5 = 0,78; pro Kilo Körpergewicht 18,3 : 23,1 = 0,78. Vom 5./III. bis zum 24./III. blieb das Tier wieder ohne Behandlung. Am 24./III. wurde es unter die Glocke gesetzt (Gew. 980 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 960 g). Die Uhr hatten 387 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,78; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,82; verbrauchte O_2-Menge 32,13. Atmungskoeffizient 33,82:32,13 = 17,0 : 22,5 = 0,76; pro Kilo Körpergewicht 17,6 : 23,2 = 0,76. Am 26./III. wurde in Teil der linken und die ganze rechte Hälfte der Schilddrüse sowie die äußere Parathyreoidea abgetragen (durch Sektion bestätigt). Das Tier wird am 30./III. unter die Glocke gesetzt (Gew. 992 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 958 g). Die Uhr hatten 444 l Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,93; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 34,33; verbrauchte O_2-Menge 30,85. Atmungskoeffizient 34,33 : 30,85 = 17,4 : 21,5 = 0,81; pro Kilo Körpergewicht 17,8 : 22,0 = 0,81. Am 9./IV. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 1000 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 980 g). Die Uhr hatten 442 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 31,23; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 33,38; verbrauchte O_2-Menge 29,8. Atmungskoeffizient 33,38 : 29,8 = 16,9 : 20,8 = 0,81; per Kilo Körpergewicht 17,0 : 21 = 0,81. Bis zum 20./IV. sah das Tier gut aus, die Operationswunde war vernarbt. Vom 20./IV. begann das Tier zu zittern und drückte sich in die Ecke des

Käfigs. Am 22./IV. wurde es unter die Glocke gesetzt (Gew. 910 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 880 g). Die Uhr hatten 399 l Luft passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 23,24; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 24,84; verbrauchte O_2-Menge 28,01. Atmungskoeffizient 24,84:24,01 = 12,5:16,0 = 0,78; pro Kilo Körpergewicht 14,0:17,9 = 0,78. 24./IV. Starkes Zittern; das Tier rührt sich nicht von der Stelle, reagiert auf Geräusch sehr wenig, es wird unter die Glocke gesetzt (Gew. 862 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 860 g). Die Uhr hatten 401 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 24,9; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 25,57; verbrauchte O_2-Menge 18,1. Atmungskoeffizient 25,57 : 18,1 = 12,9 : 12,6 = 1,02; pro Kilo Körpergewicht 14,9:14,5 = 1,02. Am 26./IV. wurde das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 800 g), verschied jedoch bald unter Krämpfen.

Versuche mit Exstirpation der Testikeln.

31. Weißes Männchen, wird am 8./V. 1904 in den Käfig gesetzt. Gew. 1190 g, 38,7°, Ph fehlt im Harn. Es wird 1,0 Benzol subcutan injiziert. 11./V. Gewicht 1170 g, 38,6°. Es sind 100 g Harn aufgefangen worden. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,65}{1,83} = 0,90$. Ph = 0,183. 11./V. Exstirpation beider Testikeln. 12./V. im Harn kein Ph, 1,0 Benzol subcutan. 13./V. Harnmenge 60 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{0,92}{1,05} = 0,88$; Ph = 0,048. 16./V. Harnmenge 110 g, Ph = 0,1, Ph = 0,148, 1,0 Benzol subcutan. 18./V. Harnmenge 110 g, Pht = 0,218. 20./V. Harnmenge 50 g, Ph = 0. Gew. 910 g, 38,6°. 1,0 Benzol subcutan. 22./V. Harnmenge 60 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,03}{1,21} = 0,83$. Ph = 0,08. 25./V. Harnmenge 90 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,27}{2,46} = 0,84$, Ph = 0,203, Pht = 0,283. 28./V. Harnmenge 130 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,09}{2,49} = 0,83$, Ph = 0. Gew. 795 g, 38,7°. 1,0 g Sper-

min subcutan. 29./V. Diarrhöe, 1,5 Spermin und 1,0 Benzol subcutan. Nach einer $^1/_4$ Stunde verschied das Tier unter Krämpfen. Sektionsbefund: starke Anämie der Nebennieren und Hypertrophie der Thyreoidea.

32. Weißes Männchen, Gew. 2710 g, 39,1 °, wird am 24./IV. 1904 in den Käfig gesetzt. 26./IV. im Harn kein Ph. 1,0 Benzol einverleibt. 1./V. Harnmenge 170 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,14}{2,31} = 0,92$. Ph $= 0,187$. 3./V. im Harn kein Ph, Exstirpation beider Testikeln. 1,0 Benzol subcutan. 6./V. Harnmenge 110 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,49}{2,76}$ $= 0,90$. Ph $= 0,207$. 7./V. Gew. 2400 g, 39,4 °. Im Harn kein Ph. Es wird 1,0 Benzol einverleibt. 11./V. Harnmenge 140 g. Ph $= 0,142$. Absceßbildung an der Operationsstelle; der Absceß wird aufgeschnitten und ausgeräumt. 12./V. Harnmenge 60 g, Ph $= 0,05$, Phr $= 0,172$. 12./V. Gew. 2410 g, 39,4 °. 1,0 Benzol subcutan. 13./V. Harnmenge 70 g, Ph $= 0,03$. 16./V. Harnmenge 119 g, Ph $= 0,195$. 18./V. Harnmenge 230 g. $\frac{N^0}{N} = \frac{2,32}{2,58} = 0,89$. Ph $= 0,02$. Pht $= 0,245$. Die Operationswunde eitert von neuem. Das Tier wird aus dem Käfig befreit.

33. Graues Männchen, wird am 12./XI. 1904 in den Käfig gesetzt; Gew. 2550 g, 39,6 °. 15./XI. Harnmenge im Laufe von 4 Tagen 100 g, der Harn wird bis auf 300 g verdünnt; spez. Gew. 1011 g, Gefrierpunkt —0,56 °. Zum Infussionsversuch wird ein 1298 g wiegendes Kaninchen verwandt. Dasselbe geht im Laufe von 4 Minuten zugrunde, nachdem ihm 21 g Harn einverleibt worden sind. Harntoxizität 4,95 T. Urotoxischer Koeffizient 1,9. Es werden einem zweiten Kaninchen von 1373 g Gew. 21 g Harn injiziert; dasselbe geht nach 7 Minuten ein. Harntoxizität 4,87 T. Urotoxischer Koeffizient 1,9. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,48}{1,50} = 0,94$. 15./XI. Gew. 2565 g, 30,4 °. 1,0 Benzol subcutan. 18./VI. Harnmenge 100 g, Ph $= 0,19$. Exstirpation beider Testikeln. 20./XI. Gew. 2385 g, 39,1 °. Im Laufe von 2 Tagen sind 67 g Harn aufgefangen worden; der Harn wird zu 200 g verdünnt; spez. Gew. 1012 g, Gefrierpunkt — 0,73 °. Ein 1100 g wiegendes Kaninchen geht nach Injektion von

33 g dieses Harns nach $4^1/_2$ Minuten ein. Harntoxizität 3,16 T. Urotoxischer Koeffizient 1,32. 23./XI. Gew. 2380 g, 39°. Im Laufe von 3 Tagen sind 110 g Harn aufgefangen worden; derselbe wird bis zu 350 g verdünnt, spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt — 0,63°. Zum Infusionsversuch wird ein 1295 g wiegendes Kaninchen verwandt, welches im Laufe von 7 Minuten eingeht, nachdem ihm 33 g Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 5,05. Urotoxischer Koeffizient 2,12. 1,0 Benzol subcutan. 25./XI. Harnmenge 80 g, Ph = 0,23. $\frac{N^0}{N} = \frac{1,5}{1,7} = 0,89$. 27./XI. Harnmenge 70 g. Ph in Spuren. 29./XI. Gew. 2400 g, 39,1°. Harnmenge 90 g, der Harn wird bis zu 200 g verdünnt, spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt — 0,62°. Harntoxizität 4,6 T. Urotoxischer Koeffizient 1,91. Das Tier wird aus dem Käfig befreit.

34. Graues Männchen; Gew. 1312 g; 39,2°; wird am 29./XI. 1904 in den Käfig gesetzt. 30./XI. Der im Laufe eines Tages aufgefangene Harn wird bis auf 100 verdünnt; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt — 0,56°. Zu dem Infusionsversuche wird ein 1570 g wiegendes Kaninchen verwandt; es geht im Laufe einer $^1/_2$ Stunde ein, nachdem ihm 50 Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 3,2 T. Urotoxischer Koeffizient 2,43. 2./XII. Im Laufe von zwei Tagen sind 75 Harn aufgefangen worden, die bis zu 150 verdünnt werden; spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt — 0,53°. Zu dem Infusionsversuche dient ein 1420 g wiegendes Kaninchen, welches im Laufe von 4 Minuten zugrunde geht, nachdem ihm 30 Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 3,5 T. Uotoxischer Koeffizient 2,68. Gew. 1298 g; 39,2°. 2./XII. Exstirpation beider Testikeln. 4./XII. Gew. 1280 g; 39,1°. Harnmenge im Laufe von 2 Tagen 90; derselbe wird bis zu 130 verdünnt; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt — 0,74°. Zu dem Infusionsversuch wird ein 1077 g wiegendes Kaninchen verwandt, welches nach 4 Minuten eingeht, nachdem ihm 38 Harn einverleibt worden sind. Harntoxizität 1,74 T. Urotoxischer Koeffizient 1,35. 7./XII. Gew. 1275 g; 39,4°. Im Laufe von 3 Tagen sind 140 Harn aufgefangen worden; derselbe wird bis auf 240 verdünnt; spez. Gew. 1012 g; Gefrierpunkt — 0,67°. Die Infusion wird an einem 1237 g wiegenden Kaninchen vorgenommen, welches nach 5 Minuten

zugrunde geht, nachdem ihm 26 Harn injiziert worden sind. Harntoxizität 3,86 T. Urotoxischer Koeffizient 3. Am 7./XII. und 8./XII. werden je 10 Tropfen Spermin per os eingegeben. 9./XII. Harnmenge im Laufe von 24 Stunden 60; der Harn wird bis auf 100 verdünnt; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt —0,61°. Zu dem Infusionsversuche wird ein 1290 g wiegendes Kaninchen verwandt; es geht im Laufe von 5 Minuten zugrunde, nachdem ihm 25 Harn injiziert worden sind. Harntoxizität 5,1 T. Urotoxischer Koeffizient 4. Vom 9./XII. an bekam das Tier kein Spermin. 11./XII. Gew. 1260 g. Harnmenge im Laufe von 2 Tagen 90, die bis zu 160 verdünnt werden; spez. Gew. 1012; Gefrierpunkt —0,65°. Zu dem Infusionsversuche diente ein 1440 g wiegendes Kaninchen, welches im Laufe von 3 Minuten einging, nachdem ihm 26 Harn injiziert worden waren. Harntoxizität 4,3 T. Urotoxischer Koeffizient 3,41. 16./XII. Gew. 1348 g; 39°. Harnmenge im Laufe von 2 Tagen 95; der Harn wird bis auf 140 verdünnt; spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt —0,57°. Die Infusion wurde an einem 1325 g wiegenden Kaninchen vorgenommen; dasselbe ging im Laufe von 4 Minuten ein, nachdem ihm 33 Harn einverleibt worden waren. Harntoxizität 2,8 T. Urotoxischer Koeffizient 2,07. Am 18./XII., 19./XII. und 20./XII. werden je 15 Tropfen Sperminessenz per os eingegeben. 21./XII. Gew. 1285 g; 39,1°. Harnmenge im Laufe von 3 Tagen 120; spez. Gew. 1016. Der Harn wird bis zu 200 verdünnt; spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt —0,65°. Ein 1350 g wiegendes Kaninchen geht nach 6 Minuten ein, nachdem ihm 28 Harn injiziert worden sind. Harntoxizität 3,05 T. Urotoxischer Koeffizient 2,37. Am 21./XII. und 23./XII. je 25 Tropfen Sperminessenz per os. 23./XII. Gew. 1250 g; 39,3°. Das Tier ist krank, schreit fortwährend auf. Im Laufe von 2 Tagen sind 70,0 Harn aufgefangen worden, welche bis zu 150 verdünnt werden; spez. Gew. 1011; Gefrierpunkt —0,62°. Einem 1030 g wiegenden Kaninchen werden 24 dieses Harnes injiziert, wonach es im Laufe von 7 Minuten zugrunde geht. Harntoxizität 3,0. Urotoxischer Koeffizient 2,40. Am 23./XII. wird das Tier aus dem Käfig befreit.

35. Graues Männchen wird am 23./IV. 1904 in den Käfig, am 25./IV. unter die Glocke gesetzt (Gew. 1002 g) und nach

24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1018 g). Die Uhr haben in diesem Zeitraume 275 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 35,2; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 38,05. Verbrauchte O_2-Menge 30,3. Atmungskoeffizient $\frac{38,05}{30,3} = \frac{20,0}{21,0} = 0,95$; pro Kilo Körpergewicht $\frac{19,8}{20,8} = 0,95$. Am 30./IV. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 1031 g), nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1034 g). Reduzierte Luftmenge 290. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 35,33; gesamte CO_2-Menge 38,42; verbrauchte O_2-Menge 31,35. Atmungskoeffizient $\frac{38,42}{31,35} = \frac{21,4}{21,9} = 0,97$; pro Kilo Körpergewicht $\frac{20,2}{21,1} = 0,97$. 3./V. Exstirpation beider Testikeln. Am 4./V. kommt das Tier unter die Glocke (Gew. 1025 g) und wird nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1048 g). Die Uhr hatten 366 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 34,94; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 37,23; verbrauchte O_2-Menge 32,12. Atmungskoeffizient $37,23:32,12 = 18,80:22,4 = 0,84$; pro Kilo Körpergewicht $18,1:21,6 = 0,84$. Am 8./V. wird das Tier wieder auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt (Gewicht 1087 g vor und 1052 g nach dem Versuch). Die Uhr haben 387 l reduzierter Luft passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 36,79; gesamte CO_2-Menge 39,03; verbrauchte O_2-Menge 35,35; Atmungskoeffizient $39,03:35,35 = 19,9:24,7 = 0,80$; pro Kilo Körpergewicht $18,6:23,1 = 0,80$, Am 12./V. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 1137 g) und nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1138 g). Die Uhr haben 426 l reduzierter Luft passiert. Durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 39,38; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 41,71; verbrauchte O_2-Menge 35,63. Atmungskoeffizient $41,71:35,63 = 21,1:24,9 = 0,84$; pro Kilo Körpergewicht $18,5:32,0 = 0,84$. Vom 13./V. bis zum 24./V. genoß das Tier die Freiheit, dann wurde es auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt (Gew. 1284 g und 1275 g). Die Uhr hatten in diesem Zeitraum 449 l reduzierter Luft passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 42,91; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge

45,22; verbrauchte O_2-Menge 37,16. Atmungskoeffizient 45,22: 37,16 = 22,9:25,9 = 0,88; pro Kilo Körpergewicht 17,9:20,2 = 0,88. Am 29./V. unter die Glocke gesetzt (Gew. 1272 g), wird das Tier nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1256 g). Die Uhr haben in diesem Zeitraum 481 l restituierter Luft passiert; durch Wägung bestimmte CO_2-Menge 42,63; im ganzen ausgeschiedene CO_2-Menge 44,72; verbrauchte O_2-Menge 36,3. Atmungskoeffizient 44,72:36,3 = 22,6:25,3 = 0,89; pro Kilo Körpergewicht 17,8:20,0 = 0,89.

Schlüsse.

Ich habe den Kaninchen verhältnismäßig starke Dosen von Poehlschem Spermin einverleibt, weil kleine Dosen auf die Benzoloxydation keine merkliche Wirkung ausübten. Bei subcutanen Injektionen war die Dosierung eine genaue; bei Einverleibung per os aber gab das Tier zuweilen einen Teil des Eingegebenen von sich. Die Einwirkung des Spermins auf die Benzoloxydation war eine wenig charakteristische: in einigen Fällen stieg die Oxydation an (Fall 21 und zum Teil Fall 23); in anderen dagegen war Oxydationsverminderung zu verzeichnen (Fall 22 und 24). Bei Kaninchen Nr. 23 stieg unter Einwirkung des Spermins die Benzoloxydation ein wenig an, als sich jedoch das Tier im Laufe von 14 Tagen von der Sperminwirkung erholt hatte, fiel die Benzoloxydation unter die Norm herab. Als diesem Kaninchen Thyreoidin per os einverleibt wurde, stieg die Benzoloxydation anfangs deutlich an, und zwar viel stärker, als dies nach Spermineinwirkung der Fall war; bei fortgesetzter Einverleibung von Thyreoidin aber traten Vergiftungserscheinungen auf, und die Oxydation ging unter die Norm herab. Nun wurde dem kranken Tiere wieder Spermin einverleibt, doch die Benzoloxydation wurde hierdurch nicht gesteigert, sondern fiel mit bedeutender Geschwindigkeit, und das Tier ging zugrunde. In Fall 24 wurde dem Kaninchen, als unter Einwirkung von Spermin die Benzoloxydation bereits zu fallen begann, Thyreoidin per os einverleibt, wonach die die Benzoloxydation anfangs anstieg, dann aber stark fiel (sie wurde um das Vierfache geringer als in der Norm) und das Tier ging ein.

Was die Einwirkung der Kastration auf die Benzoloxydation betrifft, so gelangte ich in dieser Frage zu unerwarteten Resultaten; es wäre anzunehmen, daß die Testikelexstirpation eine Verminderung der Oxydation hervorrufen würde; es erwies sich jedoch, daß man wohl bald nach der Operation in einigen Fällen (Fall 31) noch von Verminderung der Oxydation reden konnte, daß jedoch mit der Zeit in sämtlichen Fällen (Fall 31, 32 und 33) erhöhte Benzoloxydation zur Beobachtung kam; ich kann noch hinzufügen, daß ich hier einige Fälle nicht angegeben habe, daß jedoch auch in ihnen das nämliche Verhalten zu beobachten war.

Die Harntoxizität nahm bei dem mit Spermin vergifteten Kaninchen zu. Nach Exstirpation der Testikeln waren bei beiden Kaninchen die nämlichen Verhältnisse zu beobachten; bald nach der Operation nahm die Harntoxizität deutlich ab, sodann wuchs sie an und schließlich näherte sie sich mehr oder weniger der Norm. Die innere Darreichung von Spermin an kastrierte Kaninchen mit gesteigerter Harntoxizität verminderte letztere nicht, sondern ließ sie vielmehr noch stärker anwachsen; hörte die Spermindarreichung auf, so verminderte sich auch die Harntoxizität.

Auf den Gasstoffwechsel äußerte das Spermin nur eine geringe Wirkung. In den meisten Versuchen fand ein unbedeutendes Anwachsen der CO_2-Ausscheidung und der O_2-Resorption statt, wobei letztere verhältnismäßig stärker anstieg, weshalb der Atmungskoeffizient etwas fiel. In einigen Fällen (Fall 26, 27, Vers. 3) konnte verminderte O_2-Resorption und CO_2-Abgabe beobachtet werden; in anderen Fällen veränderte sich die Quantität des verbrauchten O_2 wenig, während die CO_2-Ausscheidung vermindert war. Die Schilddrüsenexstirpation rief bei einem Kaninchen, welches bis dahin Spermin einbekommen hatte (Fall 30), sehr bald eine starke Verminderung des resorbierten O_2 und der ausgeschiedenen CO_2 hervor, wonach das Tier bald unter Krämpfen zugrunde ging. In diesem Falle konnte beim Tiere im allgemeinen dasselbe Krankheitsbild beobachtet werden wie bei Kaninchen Nr. 19. Die Testikelexstirpation übte auf den Gasstoffwechsel einen eigenartigen Einfluß aus. Bei Kaninchen Nr. 27, welches vordem Spermin einbekommen hatte, erzeugte die Kastration Erhöhung der CO_2-

Ausscheidung und der O_2-Resorption, wobei auch der Atmungskoeffizient anstieg. Bei Kaninchen Nr. 35 nahm nach der Kastration die CO_2-Abgabe ein wenig ab, die O_2-Resorption aber stieg an, später aber bewegte sich die O_2-Resorption in normalen Werten, während die CO_2-Ausscheidung etwas vermindert blieb, wobei das Gewicht des Kaninchens zunahm.

Auf Gewicht und Temperatur und überhaupt auf den Allgemeinzustand der Kaninchen übte die Kastration keine merkliche Wirkung aus. Demgegenüber konnte nach subcutaner Sperminínjektion sowie bei oraler Darreichung von Spermin eine zuweilen sogar bedeutende Abnahme des Gewichts beobachtet werden. Die Temperatur stieg gewöhnlich an, beim Beginn der Intoxikationserscheinungen aber fiel sie. Das junge, im Wachtum befindliche Weibchen Nr. 28 nahm bei innerlichem Gebrauch von Sperminessenz ein wenig an Gewicht zu. Bei Kaninchen Nr. 22 trat nach innerlicher Spermindarreichung eine auszehrende Diarrhöe auf, Kaninchen Nr. 25 aber büßte nach Gebrauch von täglich je 16 Tropfen Spermin im Laufe von 2 Wochen mehr als ein Viertel seines Gewichtes ein. All meine Versuche beweisen, daß das Spermin für Tiere durchaus nicht indifferent ist.

Der Koeffizient der Oxydationsenergie von Poehl-Robin nahm sowohl nach Spermineinverleibung als auch nach Testikelexstirpation ab.

Die Wirkung des Adrenalins.

Die Literatur über die Funktion der Nebennieren, die Wirkung ihrer Extrakte auf den tierischen Organismus und namentlich über die Wirkung des Adrenalins ist eine sehr umfangreiche. Ich will mich nur auf einige wesentliche Befunde beschränken.

Bekanntlich hat Addison im Jahre 1855 eine besondere Krankheit, die später seinen Namen bekommen hat, beschrieben und sie mit einer Affektion der Nebennieren in Zusammenhang gebracht. Im folgenden Jahre wurden die Untersuchungen Brown-Séquards (67) veröffentlicht, welche bewiesen, daß diese Organe zum Gedeihen des Organismus unumgänglich notwendig sind. Einige spätere Forscher negierten die vitale Not-

wendigkeit der Nebennieren; so kam z. B. Kryschtopenko (68) zu dem Schlusse, daß Kaninchen auch ohne beide Nebennieren fortbestehen können und daß ihre Exstirpation nicht absolut tödlich ist. Dieser Befund widerspricht, wie dieser Autor meint, der hochwichtigen Bedeutung, welche die Nebennieren im Haushalte des Organismus besitzen, durchaus nicht, jedoch kann augenscheinlich die Funktion der Nebennieren durch diejenige anderer Organe ersetzt werden, ganz wie die Schweißdrüsen die Tätigkeit der Nieren auf sich nehmen können und umgekehrt (!). Es sind jedoch viele Veröffentlichungen erschienen, welche die zuerst von Brown-Séquard ausgesprochene Annahme einer übervitalen Notwendigkeit der Nebennieren bestätigen. Abelous, Charin und Langlois (69), Cybulski, Szymonowicz (70), Kudinzew (71), H. und A. Christiani (72) und viele andere halten die Nebennieren für durchaus lebenswichtige Organe. Über dieselben wie auch über die Schilddrüse ist der Befund erhoben worden, daß $^1/_{12}$ der Drüse oder das Vorhandensein einer akzessorischen Drüse genügen, um das Tier zu befähigen, die bilaterale Exstirpation der Nebennieren zu überleben.

Zu den ersten bedeutenden Forschungen über die Nebennieren gehören diejenigen von Vulpian (73), welcher einige charakteristische Farbenreaktionen für die Medullarschicht der Nebennieren festgestellt hat. Dieselben Reaktionen zeigten wässerige und alkoholische Nebennierenextrakte sowie das Blut der Vena suprarenalis. Dieselben Reaktionen sind auch für das Adrenalin charakteristisch. P. Pellacani (74) hat nachgewiesen, daß ein wässeriges Nebennierenextrakt stark giftig ist und Tiere ziemlich rasch tötet. Fast um dieselbe Zeit erschienen die Untersuchungen von Cybulski (75), Szymonowicz, Oliver und Schäfer (76). All diese Autoren haben die exakte physiologische Wirkung von Nebennierenpräparaten auf den tierischen Organismus, welche den Blutdruck, die Herzaktion und das Nervensystem betrifft, hervorgeboben. Oliver und Schäfer fanden, daß das wirkende Agens der Nebennieren augenscheinlich der Substanz, welche die Vulpiansche Reaktion zeigt, identisch ist. Krukenberg (77) wies auf den Brenzkatechincharakter dieses wirkenden Agens hin.

Fränkel (78) stellte dann diese Substanz in sirupartigem Zustande dar und benannte sie Sphypmogenin. Fürth (79)

stellte eine Eisenverbindung dieser Substanz dar, nannte sie Suprarenin und gab als Zusammensetzung $C_5H_7NO_2$ oder $C_5H_9NO_2$ an. Abel (80) gewann salzartige Verbindungen der Substanz, welche er als Epinephrin bezeichnete, und schlug als Formel der Muttersubstanz $C_{17}H_{15}NO_4$ vor. Im Jahre 1901 haben Takamine (81) und Aldrich (82) das wesentliche wirkende Prinzip augenscheinlich in ganz reiner Gestalt gewonnen und es als Adrenalin bezeichnet. Es bildet Salze, Krystalle von fünf verschiedenen Formen und zeigt viele charakteristische Reaktionen. Seine empirische Formel ist nach Takamine $C_{10}H_{15}NO_3$, nach Aldrich $C_9H_{13}NO_3$. Die Strukturformel des Adrenalins ist noch nicht ganz endgültig ausgearbeitet. Stolz (83) gewann, indem er Methylamin auf Chloroacetobrenzkatechin einwirken ließ, die krystallinische Substanz Methylaminoacetobrenzkatechin

$$[C_6H_3(OH)_2CH(NHCH_3)CH_2OH],$$

welche ihrer Struktur nach dem Adrenalin nahesteht.

Außer dem Adrenalin sind in den Nebennieren auch andere Substanzen vorhanden, welche bei der Behandlung mit Nebennieren durchaus nicht indifferent sind.

Neben chemischen Untersuchungen geht das Studium der physiologischen und therapeutischen Wirkung der Nebennieren und ihrer Produkte.

In russischer Sprache sind die Dissertationen von Belawenez (84), Ssaweljew (85) und Ssimanowicz (86) bekannt. Josué (87) beobachtete als erster die experimentelle Gefäßatheromatose, welche sich unter Einwirkung des Adrenalins entwickelt. Lorlowsky (88) und Lawrowa (79), Blum (90) und Herter (91) haben darauf hingewiesen, daß das Adrenalin Glukosurie hervorrufen kann. Gegenwärtig ist über diese zwei Fragen eine umfangreiche Literatur veröffentlicht worden. Am meisten ist jedoch über die therapeutische Bedeutung der Nebennieren und des Adrenalins geschrieben worden. Ich will nur einige Krankheiten, bei denen das Adrenalin angewandt worden ist, erwähnen, nämlich mannigfache Erkrankungen der Nasenschleimhaut, des Rachens, des Kehlkopfes, der Trachea, Ohren- und Augenkrankheiten, verschiedene innere Blutungen, Geschlechtskrankheiten, Herzkrankheiten, allgemeine Schwäche, Neurasthenie, Morbus Addisonii und Basedowii, Rachitis, Diabetes usw.

Das Adrenalin kann dem Organismus direkt intravenös, subcutan oder durch irgendeine Körperhöhle, durch den Mund oder mittels Bepinselung einer Schleimhaut einverleibt werden. Im letzteren Falle gelangt nur sehr wenig Adrenalin in den Organismus. Die Wirkung des Adrenalins bei oraler Darreichung ist wenig studiert.

In bezug auf die tödlichen und wirksamen Dosen des Adrenalins sind die Meinungen geteilt. Die Individualität spielt hier entschieden eine große Rolle, weshalb beim Menschen die intravenöse und sogar subcutane Injektion des Adrenalins mit größter Vorsicht vorgenommen werden muß.

Takamine beobachtete bei einem $15^1/_2$ kg wiegenden Hunde bei intravenöser Injektion von 0,000016 Adrenalin einen Blutdruckanstieg, welcher 30 Mil. Hg entsprach. Die intravenöse Injektion von 0,000005 Adrenalin beim Menschen ruft eine deutlich ausgeprägte Wirkung hervor. Ch. Bouchard und H. Claud (92) nehmen als tödliche Dosis pro Kilo eines Kaninchens bei intravenöser Injektion 0,0001 bis 0,0002, Belawenez aber 0,001 an.

Bei subcutaver Injektion muß die tödliche Dosis bedeutend größer sein, und zwar 10- und sogar 20mal! Ssimanowicz (86) beobachtete bei intravenöser Injektion von 0,0000005 bis 0,000001 pro Kilo Körpergewicht eine Zunahme des Blutdruckes, welche 3 bis $4^1/_2$ Min. dauerte. Eine auf die Schleimhaut applizierte Lösung 1 : 10000 entfaltet ihre Wirkung sehr rasch. Es sind Beobachtungen bekannt, welche die Zersetzung des Adrenalins im Organismus durch die Leber und auf andere Weise dartun. Es ist die Gewöhnung an das Adrenalin nachgewiesen worden und ein Antiadrenalinserum gewonnen worden. Ich kann hier nicht genauer auf diese wichtige und interessante Frage eingehen, ich erwähne nur eines der Ergebnisse der Arbeit von Ssaweljew (85), welcher sagt, daß die Einverleibung progressiv anwachsender kleiner Adrenalindosen bei subcutaner Injektion im tierischen Organismus eine Immunität gegen dieses Gift hervorrufen kann. Das Blutserum von in dieser Weise immunisierten Tieren besitzt die Fähigkeit, die toxische Wirkung tödlicher Adrenalindosen in bedeutendem Grade zu paralysieren, indem sogar die vierfache tödliche Dosis ohne Schaden einverleibt werden kann.

Ich habe in der Literatur wenig Angaben gefunden, die direkt zu meinen Beobachtungen in Beziehung stehen.

Über die Harntoxizität finden sich Angaben bei Cybulski. Er fand, daß der Harn von Tieren, denen ein Nebennierenextrakt injiziert worden war, ebenso toxisch wirkt wie der Extrakt selbst. Oliver und Schäfer negieren eine derartige Wirkung des Harns. Venanti fand, daß der Harn von Tieren, denen die Nebennieren exstirpiert worden waren, stark toxische Eigenschaften aufweist. Die Harntoxicität wurde von obengenannten Autoren ohne Korrektur in bezug auf den osmotischen Druck untersucht. Was die Oxydations- und Gasstoffwechselvorgänge unter Einwirkung von Nebennieren und Adrenalin anbetrifft, so behauptet Goljachowsky (94), daß bei Verminderung der Nebennierenfunktion die wesentlichsten Lebensfunktionen geschädigt werden und unter anderem der Gasstoffwechsel eine dem Fieberzustande entsprechende Erhöhung erleidet. Nach Tarchanow (95) vermindert das Adrenalin augenscheinlich die Oxydationsprozesse in bedeutendem Grade. Genauer hat Belawenez (84) den Gasstoffwechsel studiert; er fand, daß das Adrenalin in geringen Dosen den Gasstoffwechsel verstärkt, in stärkeren ihn aber herabdrückt, wobei auch Temperaturverminderung zu beobachten ist. Die Periode des verstärkten Gasstoffwechsels dauert bei verschiedenen Kanninchen nicht gleich lang an und wird dann durch eine Periode des verminderten Gasstoffwechsels abgelöst. Ein Vergleich von 2- und 3stündigen Zeitabschnitten nach Injektion von 0,0005 Adrenalin beweist, daß die bedeutendste Verstärkung des Gasstoffwechsels in den ersten zu beobachten ist, woraus man folgern kann, daß dieselbe nur in dem ersten verhältnismäßig kurzen Zeitabschnitte nach Einverleibung des Adrenalins stattfindet. Durchmustert man die Tabelle, so sieht man, daß in Fall 7 und 8 nach Injektion von 0,0005 Adrenalin im Laufe von 3 Stunden der Gasstoffwechsel abnahm, in Fall 13 und 14 dasselbe im Laufe von 6 Stunden nach Injektion von 0,001 stattfand.

Da ich nicht eine akute, sondern möglichst chronische Adrenalinintoxikation hervorrufen wollte, so wandte ich nach Möglichkeit tägliche subcutane Injektionen an. Ich benutzte das Adrenalin Takamine (von Merck bezogen) in Lösungen von 1 : 10000 bis 1 : 4000, welche möglichst oft erneuert wurden;

pro dosi wurden 0,00005 bis 0,00075 einverleibt. Unter Einwirkung solcher Dosen nahmen die Tiere an Gewicht ab und erkrankten, d. h. es war augenscheinlich, daß wir es mit einer chronischen Intoxikation zu tun hatten.

35. Gelbes Männchen, kommt am 13./II. 1907 in den Käfig. 15./II. Gew. 1510 g; 38,1°; Ph = 0; 1,0 Benzol subcutan. 17./II. Menge des verdünnten Harns 200; Pht = 0,2. 20./II. Harnmenge 100; Ph = 0; Pt = 0,2. 20./II. 1,0 Benzol subcutan. 22./II. Harnmenge 200; Ph = 0,216. 24./II. im Harn kein Phenol; Pht = 0,216. 24./II. um 2 Uhr 0,5 Adrenalinlösung (1 : 5000), um 5 Uhr 1,0 Adrenalin und 1,0 Benzol subcutan. Gewicht des Kaninchens vor der Benzolinjektion 1340 g. 25./II. 1,0 Adrenalinlösung subcutan. 27./II. Harnmenge 200; Ph = 0,423. 27./II. 2,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) und 1,0 Benzol subcutan. 28./II. 2,0 Adrenalinlösung subcutan. Gew. 1200 g; Ph = 0,4. 2./III. im Harn kein Phenol; 1,0 Adrenalinlösung und 1,0 Benzol subcutan. 6./III. Harnmenge 400; Ph = 0,244. Am 4./IV. wird das Tier in Freiheit gesetzt.

37. Graues Männchen, kommt am 29./III. 1907 in den Käfig. 30./III. Gew. 2580 g. 1./IV. Gew. 2595; 1,0 Benzol subcutan. 4./IV. Menge des aufgefangenen verdünnten Harnes 240; Ph = 0,244. 4./IV. 1,0 Adrenalinlösung (1 : 4000) subcutan. Am 5./IV. 1,0 und am 6./IV. 1,5 derselben Adrenalinlösung. 7./IV. Harnmenge 240; Ph = 0,351. 8./IV. kein Phenol im Harn. Gew. 2205 g; 2,0 Adrenalinlösung (1 : 4000) und 1,0 Benzol subcutan. 9./IV. 1,0 und 10./IV. 2,0 Adrenalinlösung. 11./IV. Harnmenge 200; Ph = 0,341. 11./IV. 1,0 Benzol und 3,0 Adrenalinlösung (1 : 4000) subcutan. Gew. 2190 g. 14./IV. Gew. 2080 g; Harnmenge 300; Ph = 0,319. 15./IV. kein Phenol im Harn. Das Tier wird aus dem Käfig befreit.

38. Schwarzes Männchen mit weißen Flecken. Gew. 2100 g; 39,3°. Kommt am 30./IV. 1906 in den Käfig. 3./X. Im Laufe von 2 Tagen sind 260,0 verdünnten Harns vom spez. Gew. 1013 aufgefangen worden. Gefrierpunkt — 0,77. Zum Infusionsversuche wird ein 1245 g wiegendes Kaninchen verwandt. Es geht nach 22′ zugrunde, nachdem ihm 58,0 Harn injiziert worden sind. Harntoxizität 2,68 T. Urotoxischer Koeffizient 1,27. 1,0 Benzol subcutan. 5./X. Gew. 2020 g; 39,3°; Harnmenge 250,0; spez. Gew. 1012; Ph = 0,281. Am 5./X. wird das

Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 2020 g), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 2010 g). Atmungskoeffizient 48,27 : 36,75 = 24,5 : 25,7 = 0,95. Pro Kilo Körpergewicht 12,1 : 12,7 = 0,95. 9./X. Gew. 2040 g; 38,9°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt, nach 24 Stunden wieder herausgenommen. Gew. 2020 g; 39°. Atmungskoeffizient 48,29 : 37,85 = 24,5 : 20 = 0,94. Pro Kilo Körpergewicht 12,0 : 12,8 = 0,94. 10./X. 0,5 Adrenalinlösung (1 : 10000) subcutan. 11./X. und 12./X. je 1,0, 13./X. 1,5 derselben Adrenalinlösung. 13./X. Gew. 1970 g; 39,5°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt, nach 24 Stunden wieder herausgenommen. Gew. 1890 g; 39,3°. Atmungskoeffizient 49,87 : 34,5 = 25,3 : 24,0 = 1,05. Pro Kilo Körpergewicht 13,1 : 12,4 = 1,05. Nachdem das Tier aus dem Käfig herausgenommen worden ist, werden ihm 1,5 Adrenalinlösung (1 : 10000) und 1,0 Benzol subcutan einverleibt. 15./X. 1,5 Adrenalin; 17./X. und 18./X. 2,0 Adrenalin. 16./X. Harnmenge 300; spez. Gew. 1011; Ph = 0,346. 17./X. Harnmenge 100; Ph = 0. Am 18./X. unter die Glocke gesetzt (Gew. 1912 g; 39,3°), wird das Tier nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1912 g; 39,2°). Atmungskoeffizient 54,34 : 32,8 = 27,5 : 23,7 = 1,17. Pro Kilo Körpergewicht 14,4 : 12,3 = 1,17. 20./X. Im Laufe von 2 Tagen sind 210,0 Harn vom spez. Gew. 1010 aufgefangen worden. Gefrierpunkt — 0,47. Einem 1490 g wiegenden Kaninchen werden 41,0 Harn injiziert, es geht nach 10′ zugrunde. Harntoxizität 3,75 T. Urotoxischer Koeffizient 1,92. Am 19./X., 20./X., 21./X. und 22./X. je 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. Am 21./X. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 1910 g; 38,9°), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (1898 g; 38,7°). Atmungskoeffizient 52,66 : 32,98 = 26,7 : 23,0 = 1,16. Pro Kilo Körpergewicht 14,0 : 12,0 = 1,16. 22./X. 1,0 Benzol, 24./X., 25./X. und 26./X. je 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. 25./X. Harnmenge 400; Ph = 0,202. 26./X. im Harn kein Phenol. Vom 27./X. bis zum 16./XI. bekam des Tier kein Adrenalin. 4./XI. Im Laufe von 2 Tagen sind 148 Harn, bis auf 200,0 verdünnt, aufgefangen worden. Spez. Gew. 1014; Gefrierpunkt — 0,9. Einem 1214 g wiegenden Kaninchen werden 42,0 Harn injiziert, es geht nach 8′ zugrunde. Harntoxizität 2,64 T. Urotoxischer Koeffizient 1,48. 4./XI. 1,0 Benzol subcutan. 7./XI. Harnmenge 130; spez. Gew. 1031; Ph = 0,185.

9./XI. Harnmenge 90; Ph = 0,01; Pht = 0,195. Am 13./XI. wird das Tier unter die Glocke gesetzt (Gew. 1930 g; 38,9°), nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1895 g; 38,6°). Atmungskoeffizient 45,6 : 34,46 = 23,1 : 24,1 = 0,96. Pro Kilo Körpergewicht 12,0 : 12,6 = 0,96. 16./XI. 0,5 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. Gew. 1820 g; 39,4°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gewicht hiernach 1830 g; 39,3°. Atmungskoeffizient 48,16 : 33,26 = 24,4 : 23,2 = 1,05. Pro Kilo Körpergewicht 13,4 : 12,7 = 1,05. 18./XI., 19./XI. und 20./XI. je 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. 20./XI. Gew. 1820 g. Im Laufe von 2 Tagen sind 250,0 verdünnten Harns vom spez. Gew. 1012 aufgefangen worden. Gefrierpunkt — 0,64. Einem 1438 g wiegenden Kaninchen werden 46,0 Harn injiziert, es geht nach 8′ zugrunde. Harntoxizität 3,84 T. Urotoxischer Koeffizient 2,11. 23./XI. und 24./XI. je 2,5 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. 24./XI. Gew. 1700 g; 38,2°. Das Tier wird unter die Glocke gesetzt, nach 24 Stunden wieder heraus. genommen. Gew. 1650 g; 38,9°. Atmungskoeffizient 44,71 : 29,41 = 22,7 : 20,7 = 1,09. Pro Kilo Körpergewicht 13,5 : 12,03 = 1,09. 25./XI. 0,05 Thyreoidin. 26./XI. 0,1 Thyreoidin innerlich. Gew. 1630 g; 39,4°. Atmungskoeffizient 46,5 : 37,51 = 23,6 : 26,2 = 0,90. Pro Kilo Körpergewicht 14,6 : 16,2 = 0,90. Am 27./XI. wird das Tier ganz krank aus dem Käfig entlassen.

39. Weißes Männchen mit schwarzen Ohren, wird am 30./IX. 1906 in den Käfig gesetzt. 3./X. Im Laufe von zwei Tagen sind 125 Harn aufgefangen worden (spez. Gew. 1024), der bis auf 240 verdünnt wird (spez. Gew. 1012). Gefrierpunkt — 0,66. Einem 1298 g wiegenden Kaninchen werden 40 dieses Harns injiziert, dasselbe geht nach 9 Minuten zugrunde. Harntoxizität 3,4 T. Urotoxischer Koeffizient 1,73. Dem Tiere wird 1,0 Benzol subcutan injiziert. 5./X. Harnmenge 120; spez. Gew. 1023; Ph = 0,297. 6./X. Im Harn Phenol in Spuren. Das Tier kommt unter die Glocke (Gew. 1950 g; 38,8°) und wird nach 24 Stunden wieder herausgenommen (Gew. 1835 g); unter der Glocke hat es Harn gelassen. Atmungskoeffizient 43,17 : 32,64 = 21,9 : 22,8 = 0,98. Pro Kilo Körpergewicht 11,5 : 12,06 = 0,98. 7./X. 1,0 Benzol subcutan. 11./X. Harnmenge 50. Spez. Gew. 1029. Ph = 0,02. Ph t = 0,272.

Am 11./X. wird das Tier wieder unter die Glocke gesetzt (Gew. 1780 g), nach 24 Stunden herausgenommen (Gew. 1070 g; 38,9°). Atmungskoeffizient 38,51 : 33,01 = 19,7 : 23,0 = 0,85. Pro Kilo Körpergewicht 11,0 : 12,9 = 0,75 (!). 14./X. Gew. 1815 g; 39°. 0,7 Adrenalinlösung (1 : 10000) subcutan. 15./X. 1,0 und 16./X. 1,5 derselben Lösung. Gew. 1840 g; 39,2°. Das Tier wird auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt (Gew. 1820 g). Atmungskoeffizient 51,98 : 31,17 = 27,2 : 21,8 = 1,24. Pro Kilo Körpergewicht 14,9 : 11,9 = 1,24. 17./X. und 18./X. bekommt das Tier je 2,0 Adrenalinlösung (1 : 10000). 19./X. Gew. 1650 g. Im Laufe von 2 Tagen sind 200 verdünnten Harns aufgefangen worden; spez. Gew. 1012. Gefrierpunkt —0,75. Einem 1407 g wiegenden Kaninchen werden 36 dieses Harns einverleibt, dasselbe geht nach 5 Minuten zugrunde. Harntoxizität 3,79 T. Urotoxischer Koeffizient 2,30. 19./X. Gew. 1650 g; 40,5. Das Tier wird nach Injektion von 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) unter die Glocke gesetzt, nach 24 Stunden wieder herausgenommen. Gew. 1660 g; 40,2°. Atmungskoeffizient 44,61 : 30,82 = 22,6 : 21,5 = 1,05. Pro Kilo Körpergewicht 13,6 : 12,9 = 1,05. 20./X. 1,0 Benzol und 20./X., 21./X. und 22./X. je 1,0 Adrenalinlösung subcutan. 22./X. Harnmenge 95; spez. Gew. 1036; Ph = 0,291. 23./X. Harnmenge 60; Ph = 0,02; Ph = 0,311. 23./X. Gew. 1680 g;. 39,2°. Injektion von 1,5 Adrenalinlösung (1 : 5000). Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke (Gew. 1670 g; 38,9°). Atmungskoeffizient 46,4 : 28,2 = 23,5 : 19,9 = 1,18. Pro Kilo Körpergewicht 14,0 : 11,8 = 1,18. 24./X., 25./X. und 26./X. je 1,0 Adrenalinlösung subcutan. 26./X. Gew. 1650 g; 38,5°. Harnmenge im Laufe von 2 Tagen 120; spez. Gew. 1017. Der Harn wird zu 180 verdünnt, spez. Gew. 1012. Gefrierpunkt —0,73. Ein Kaninchen von 1150 g Gewicht, dem 56 dieses Harns injiziert werden, geht nach 14 Minuten zugrunde. Harntoxizität 1,77. Urotoxischer Koeffizient 1,07. Vom 27./X. bis zum 8./XI. wird kein Adrenalin injiziert. 8./XI. Gew. 1750 g; 38,9°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke; Gew. 1730 g; 39°. Atmungskoeffizient 45,64 : 31,73 = 23,2 : 22,1 = 1,05. Pro Kilo Körpergewicht 13,3 : 12,7 = 1,05. 9./XI. und 10./XI. 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan, 11./XI. 1,8 derselben Lösung. Das Tier kommt auf 24 Stunden

unter die Glocke. Gew. 1630 g bis 1565 g; 39,5° bis 39,2°. Atmungskoeffizient 38,23:34,42 = 19,4:24,0 = 0,80. Pro Kilo Körpergewicht 12,1 : 15,0 = 0,80. 14./XI., 16./XI. und 18./XI. je 2,0, 19./XI. 3,0 Adrenalinlösung (1:5000) subcutan. Das Tier ist sichtlich krank. 19./XI. Gew. 1480 g; 37,2°. Es kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1460 g; 37,8°. Atmungskoeffizient 38,44:29,0 = 13,5:20,2 = 0,97. Pro Kilo Körpergewicht 13,3:13,7 = 0,97. 20./XI. 0,05 Thyreoidin per os, 21./XI. 0,03. Gew. 1420 g; 38,8°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1370 g; 38,5. Atmungskoeffizient 38,85:31,1 = 19,7:21,0 = 0,94. Pro Kilo Körpergewicht 14,1: 15,0 = 0,94. 22./XI. und 23./XI. je 0,05 Thyreoidin per os. Diarrhöe, das Tier ist niedergeschlagen, sehr schwach. Gew. 1280 g; 36,3. Es geht am 23./XI. zugrunde. Bei der Sektion sind die Blutgefäße makroskopisch nicht verändert, alle Gewebe trocken, die serösen Häute besonders stark pigmentiert, beide Nebennieren mehr als normal, pigmentiert, die Testikeln hyperämisch.

40. Graues Männchen; Gew. 2685 g. Kommt am 4./IV. 1907 in den Käfig. 6./IV. Gew. 2665 g; 38,8°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 2650 g; 38,9°. Atmungskoeffizient 65,06:59,46 = 33,0:41,5 = 0,80. Pro Kilo Körpergewicht 12,4:15,6 = 0,80. 10./IV. 0,7 Adrenalinlösung (1:4000) subcutan. Gew. 2750 g; 39,5°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 2690 g; 38,6°. Atmungskoeffizient 71,9:52,9 = 36,5:37,0 = 0,98. Pro Kilo Körpergewicht 13,4: 13,6 = 0,98. 12./IV. und 13./IV. je 1,0 Adrenalinlösnng (1:4000) subcutan. 13./IV. Gew. 2635 g; 40°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 2620 g; 38°. Atmungskoeffizient 65,2:55,33 = 33,1 : 38,6 = 0,86. Pro Kilo Körpergewicht 12,2:14,7 = 0,86. 14./IV. und 15,IV. je 3 Adrenalinlösung (1:5000) suecutan. 16./IV. Gew. 2400 g. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 2362 g. Atmungskoeffizient 60,82:44,31 = 30,9:31,0 = 1,0. Pro Kilo Körpergewicht 12,9:13,0 = 1,0. Das Tier wird aus dem Käfig befreit.

41. Altes Männchen, wird am 13./III. 1907 in den Käfig gesetzt; Gew. 1590 g; Temp. 38,8°. Dasselbe Kaninchen hat schon als Versuchstier gedient. Als Nr. 10 wurde es mit einem

Gewicht von 1443 g und 39° am 18./XI. 1906 unter die Glocke gesetzt, wobei in normaler Periode sein Atmungskoeffizient 47,18 : 33,19 = 23,94 : 23,21 = 1,03 oder pro Kilo Körpergewicht 16,95 : 16,43 = 1,03 betrug. Nach Darreichung von Thyreoidin, als das Tier bereits sichtlich krank war, ergab der letzte Versuch am 27./XI. bei einem Gewicht von 1170 bis 1080 g und einer Temperatur von 39,3 bis 38° den Atmungskoeffizienten 39,33 : 35,95 = 20,0 : 25,1 = 0,79 oder pro Kilo Körpergewicht 17,8 : 23,3 = 0,79. Dasselbe Tier wiegt also am 14./III. 1907 1590 g, seine Temperatur beträgt 38,8°. Es wird auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt. Gew. 1600 g; 39°. Atmungskoeffizient 44,69 : 31,04 = 22,6 : 21,7 = 1,04; pro Kilo Körpergewicht 14,2 : 13,6 = 1,04. Am 16./III. kommt es wieder auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1580 bis 1550 g; Temp. 38,8 bis 39,1°. Atmungskoeffizient 45,0 : 31,01 = 22,8 : 21,7 = 1,05; pro Kilo Körpergewicht 14,6 : 13,9 = 1,05. 21. und 22./III. je 0,5 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. 22./III. Gew. 1545 g; 39°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1510 g; 39°. Atmungskoeffizient 50,75 : 32,0 = 25,7 : 22,4 = 1,14; pro Kilo Körpergewicht 19,3 : 14,6 = 1,14. 23./III. 0,5 Adrenalinlösung (1 : 5000). Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1500 bis 1480 g; Temp. 39°. Atmungskoeffizient 48,35 : 28,7 = 24,5 : 20,0 = 1,22; pro Kilo Körpergewicht 16,4 : 13,4 = 1,22. Am 25./III. werden dem Tiere aus Versehen 0,5 Spermin und dann sofort 0,5 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan injiziert. 25./III. Gew. 1460 g; 39,1°. Es kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1410 g; 39,1°. Atmungskoeffizient 35,1 : 32,17 = 18,3 : 22,5 = 0,79; pro Kilo Körpergewicht 12,7 : 15,6 = 0,79. 27. und 28./III. je 1,0 Adrenalinlösung (1 : 5000). 28./III. Gew. 1300 g; 39,6°. Das Tier kommt auf 24 Stunden unter die Glocke. Gew. 1295 g; 39,4°. Atmungskoeffizient 29,68 : 31,24 = 15,0 : 21,8 = 0,69; pro Kilo Körpergewicht 11,6 : 16,8 = 0,69. 29. und 30./III. je 2,0 Adrenalinlösung (1 : 5000) subcutan. Gew. 1220 g; 39°. Das Tier wird auf 24 Stunden unter die Glocke gesetzt. Gew. 1210 g; 39°. Atmungskoeffizient 27,62 : 31,34 = 14,0 : 21,8 = 0,64; pro Kilo Körpergewicht 11,5 : 17,9 = 0,64. Am 31./III. wird das Tier aus dem Käfig befreit.

Tabelle.

Nr., Geschlecht und Farbe des Kaninchens. Datum. Benzol.	Gewicht und Temperatur	Menge, spez. Gew. u. Gefrierpunkt des Harns	Menge des oxydierten Phenols	Luftmenge	Gasstoffwechsel		Zeitpunkt u. Menge des einverleibten Adrenalins u. a.	Besond. Bemerkungen, Harntoxizität und Bestand der Luft unter der Glocke
					pro Tier	pro Kilo		
Nr. 36. Gelbes Männchen. 15./II. 1907. Benzol	1510, 38,10	—	0	—	—	—	—	—
17./II.	—	200 (verdünnt)	0,2	—	—	—	—	—
20. Benzol	—	100	0	—	—	—	—	—
22.	—	200	0,216	—	—	—	—	—
24. Benzol	1340	—	0	—	—	—	24./II. 0,00005 u. 0,0001 Adrenalin	—
27.	—	200	0,423	—	—	—	25./II. 0,0001 27. u. 28./II. 0,0002	—
1./III.	1200	—	0,4	—	—	—	2./III. 0,0001	—
2. Benzol	—	—	0	—	—	—	—	—
6.	—	400	0,36	—	—	—	—	Wird aus d. Käfig befreit
Nr. 37. Graues Männchen. 1./IV. 1907. Benzol	2595	—	0	—	—	—	—	—
4./IV. Benzol	—	240 (verdünnt)	0,244	—	—	—	4./IV. 0,00025 Adren. 5. u. 6./IV. 0,000375	—
7.	—	240	0,351	—	—	—	8. IV. 0,0005	—
8. Benzol	2205	—	0	—	—	—	9./IV. 0,00025	—
11.	2190	200	0,341	—	—	—	10. 0,0005, 11. 0,00075	—
14.	2070	300	0,319	—	—	—	—	Wird aus d. Käfig befreit Tn = 2,68, Kn = 1,27
Nr. 38. Schwarzes Männchen. 3./X. 1906. Benzol	2100, 39,3	260 1013, —0,77	0	—	—	—	—	—

5./X.	2020, 39,3 2010	250, 1012	0,281	311	$\frac{24,5}{25,7} = 0,95$	$\frac{12,1}{12,7} = 0,95$	—	—
9.	2040, 38,9 2020, 39,0	—	—	290	$\frac{24,5}{26,0} = 0,94$	$\frac{12,0}{12,8} = 0,94$	10./X. 0,0005 11. u. 12./X. 0,0001	—
13. Benzol	1970, 39,5 1890, 39,3	—	—	353	$\frac{25,3}{24,0} = 1,05$	$\frac{13,1}{12,4} = 1,05$	13./X. 0,00015 15./X. 0,00015	—
16.	—	300, 1011	0,346	—	—	—	17. u. 18./X. 0,0002	—
18.	1912, 39,3 1912, 39,2	—	0	324	$\frac{27,5}{23,7} = 1,17$	$\frac{14,4}{12,3} = 1,17$	—	—
20.	—	210 1010, —0,47	—	—	—	—	19.20.u.21./X. 0,0002	Tn = 3,75, Kn = 1,92
21.	1910, 38,9 1898, 38,7	—	—	334	$\frac{26,7}{23,0} = 1,16$	$\frac{14,0}{12,0} = 1,16$	—	—
22. Benzol	—	—	—	—	—	—	24.25.u.26./X. 0,0002	—
25.	—	400	0,202	—	—	—	26./X. bis 16./XI. kein Adrenalin	—
4./XI. Benzol	—	145, 200 1014, —0,9	—	—	—	—	—	Tn = 2,64, Kn = 1,48
7.	—	130, 1031	0,185+ 0,01 = 0,195	—	—	—	—	—
9.	—	90,0	—	—	—	—	—	—
13.	1930, 38,9 1895, 38,6	—	—	340	$\frac{23,1}{24,1} = 0,96$	$\frac{12,0}{12,6} = 0,96$	—	—
16.	1820, 39,4 1830, 39,3	—	—	329	$\frac{24,4}{23,2} = 1,05$	$\frac{13,4}{12,7} = 1,05$	16./XI. 0,0001	—
20.	1820	280 (verdünnt) 1012, —0,64	—	—	—	—	18., 19. u. 20./XI. 0,0002	Tn = 3,84, Kn = 2,11
24.	1600, 38,2 1650, 38,5	—	—	310	$\frac{22,7}{20,7} = 1,09$	$\frac{13,5}{12,2} = 1,09$	23. u. 24./XI. 0,0005	—
25.	1630, 38,4 1590, 39,4	—	—	312	$\frac{23,6}{26,2} = 0,90$	$\frac{14,6}{16,2} = 0,90$	25./XI. 0,05 26./XI. 0,1 Thyreoidin innerlich	26./XI. Wird ganz krank aus dem Käfig entlassen Tn = 3,4, Kn = 1,73

Tabelle (Fortsetzung).

Nr., Geschlecht und Farbe des Kaninchens. Datum. Benzol.	Gewicht und Temperatur	Menge, spez. Gew. u. Gefrierpunkt des Harns	Menge des oxydierten Phenols	Luftmenge	Gasstoffwechsel		Zeitpunkt u. Menge des einverleibten Adrenalins u. a.	Besond. Bemerkungen, Harntoxizität und Bestand der Luft unter der Glocke
					pro Tier	pro Kilo		
Nr. 39. Weißes Männchen mit schwarzen Ohren 3./X.1906. Benzol	1968, 38,6	125, 240 1012, —0,66	0	—	—	—	—	—
5./X.	—	120, 1023	0,297 in Spuren	—	—	—	—	—
6.	1950, 38,8 1735	—		292	$\frac{21,9}{22,8} = 0,96$	$\frac{11,5}{12,0} = 0,96$	—	—
7. Benzol	—	200, 1018	0,252+ 0,02 = 0,272	—	—	—	—	—
11.	1780 1770, 38,9	50, 1029	—	369	$\frac{19,7}{23,0} = 0,85$	$\frac{11,0}{12,9} = 0,85$	—	—
14.	1815, 39,1	—	—	—	—	—	14./X. 0,00007	—
16.	1840, 39,2 1820, 39,2	—	—	331	$\frac{27,2}{21,8} = 1,24$	$\frac{14,9}{11,9} = 1,24$	15./X. 0,0001 16./X. 0,00015 17. u. 18./X. 0,0002	—
19. Benzol	1650, 40,5 1660, 40,2	200, 1012 —0,75	—	372	$\frac{22,6}{21,5} = 1,05$	$\frac{13,6}{12,9} = 1,05$	19., 20. u. 21./X. 0,0002	Tn = 3,79, Kn = 1,3
22.	—	95, 1036	0,291+ 0,02 = 0,311	—	—	—	22./X. 0,0002 23./X. 0,0003	—
23.	1680, 39,2 1670, 38,9	60	—	293	$\frac{23,5}{19,9} = 1,18$	$\frac{14,0}{11,8} = 1,18$	24., 25. u. 26./X. 0,002	—
26.	1650, 38,5	120, 180 1012, 0,73	—	—	—	—	27./X. bis 9./XI. kein Adrenalin	Tn = 1,77, Kn = 1,07

8./XI.	1750, 38,9 1730, 39,0	—	—	310	$\frac{23,2}{22,1} = 1,05$	$\frac{13,3}{12,7} = 1,05$	9. u. 10./XI. 0,0002 11./XI. 0,00036 14. u. 16./XI. 0,0004	—
19.	1480, 38,2 1460, 37,8	—	—	317	$\frac{19,5}{20,2} = 0,97$	$\frac{13,3}{13,7} = 0,97$	18. u. 19./XI. 0,0006	Sichtlich krank
21.	1420, 38,7 1370, 38,5	—	—	307	$\frac{19,7}{21,0} = 0,94$	$\frac{14,1}{15,0} = 0,94$	20./XI. 0,05, 21. 0,03 Thyreoidin innerlich	—
23.	1280, 36,3	—	—	—	—	—	22./XI. 0,05 23./XI. 0,05	Diarrhöe, sehr schwach, Exitus
Nr. 40. Graues Männchen. 6./IV. 1907. 10./IV.	2665, 38,8 2650, 38,9	—	—	405	$\frac{33,0}{41,0} = 0,80$	$\frac{12,4}{15,6} = 0,80$	10./IV. 0,000075	8,39, 11,46. 8,39, 11,6 8,19, 11,38. 8,3, 11,5
	2750, 39,5 2690, 38,6	—	—	392	$\frac{36,5}{37,0} = 0,98$	$\frac{13,4}{13,6} = 0,98$	12. u. 13./IV. 0,00075	9,49, 11,63. 9,37, 10,93 9,1, 10,96. 9,32, 11,6
13.	2635, 40,0 2620, 38,6	—	—	396	$\frac{33,1}{38,6} = 0,86$	$\frac{12,2}{14,7} = 0,86$	14. u. 15./IV. 0,0006	7,65, 11,28. 7,36, 11.32 9,16, 11,47. 8,06, 11,36
16.	—	—	—	369	$\frac{30,9}{31,0} = 1,0$	$\frac{12,9}{13,0} = 1,0$	—	Das Tier wird aus dem Käfig befreit
Nr. 41. Graues Männchen. 13./III. 1907. 16.	1595, 38,8 1600, 39,0	—	—	345	$\frac{22,6}{21,7} = 1,04$	$\frac{14,2}{13,6} = 1,04$	—	5,64, 14,7. 5,52, 14,74 5,81, 14,62. 5,66, 14,7
	1580, 39,1 1550, 39,1	—	—	342	$\frac{22,4}{22,3} = 1,0$	$\frac{14,3}{14,2} = 1,0$	21. u. 22./III. 0,0001 Adrenalin	5,98, 13,97. 6,17, 14,83 5,84, 14,8. 6,03, 14,5
22.	1545, 39,0 1510, 39,0	—	—	341	$\frac{25,7}{22,4} = 1,14$	$\frac{14,3}{14,6} = 1,14$	—	6,46, 14,41. 5,9, 14,17 7,76, 14,72. 6,7, 14,43
23.	1500, 39,0 1480	—	—	335	$\frac{24,5}{21,0} = 1,22$	$\frac{16,4}{13,4} = 1,22$	23./III. 0,001	6,4, 14,59. 5,9, 14,4 7,82, 15,3. 6,44, 14,74
25.	1460, 39,1 1460, 39,1	—	—	293	$\frac{18,3}{22,5} = 0,79$	$\frac{12,7}{15,6} = 0,79$	25./III. 0,5 Spermin u. 0,0001 Adrenalin	6,61, 11,76. 5,94, 13,35 5,27, 14,9.
28.	1300, 39,6 1295, 39,4	—	—	424	$\frac{15,0}{21,8} = 0,69$	$\frac{11,6}{16,9} = 0,69$	27. u. 28./III. 0,0002	5,1, 14,6. 3,47, 16,51 4,57, 16,0. 4,38, 15,7
30.	1200, 39,0 1210, 39,1	—	—	385	$\frac{14,0}{21,8} = 0,64$	$\frac{11,5}{17,9} = 0,64$	29. u. 30./III. 0,001	5,1, 13,25. 3,6, 15,7 4,13, 15,92. 4,28, 14,96

Die Benzoloxydation im Organismus wurde bei sämtlichen Kaninchen durch chronische Intoxikation mit kleinen Adrenalindosen erhöht, und zwar in einigen Fällen um das Doppelte (Nr. 36). Dauerte die Vergiftung lange an, so begann die Benzoloxydation zu fallen (Nr. 36 und 37), zuweilen sogar unter die Norm (Nr. 38). Bei diesem letzten Kaninchen war sogar 9 Tage nachdem, als die Adrenalindarreichung aufgehört hatte, die Benzoloxydation vermindert. Die Harntoxizität nimmt zu Anfang unter Einwirkung der Adrenalinintoxikation zu; wächst jedoch die Intoxikation an und erkrankt das Tier, so vermindert sich die Harntoxizität sogar bis unter die Norm.

Die Störungen des Gasstoffwechsels unter Einwirkung einer chronischen Adrenalinintoxikation äußerte sich in folgendem: die CO_2-Ausscheidung wächst nach kleinen und mittleren Dosen bedeutend an; was die Menge des resorbierten O_2 anbetrifft, so verminderte sie sich gewöhnlich oder blieb unverändert, und nur in seltenen Fällen (Nr. 41) nahm sie ein wenig zu. Der Atmungskoeffizient wuchs dank diesen Veränderungen gewöhnlich an. Wurde das Adrenalin in bedeutender Dosis einverleibt (Nr. 40), so verminderte sich nicht nur die Menge des resorbierten O_2, sondern auch die der ausgeschiedenen CO_2. Hörte man mit der Adrenalineinverleibung auf, so hatte das durchaus nicht eine Wiederherstellung des normalen Gasstoffwechsels zur Folge.

Bei Kaninchen Nr. 39 war der Gasstoffwechsel noch 12 Tage nach der letzten Adrenalineinverleibung verändert, bei Kaninchen Nr. 38 aber kehrte er sogar im Laufe von 21 Tagen nicht zur Norm zurück. Bei den Kaninchen Nr. 38 und 39 bewirkt eine innere Darreichung von Thyreoidin zu einer Zeit, als die Adrenalinintoxikation und die dieser entsprechende Veränderung des Gasstoffwechsels einen bedeutenden Grad erreicht hatten, eine Veränderung des nämlichen Gasstoffwechsels in der der Thyreoidinintoxikation entsprechenden Richtung: es nahm die Menge des resorbierten O_2 zu und dementsprechend der Atmungskoeffizient ab. Überhaupt muß bemerkt werden, daß die Kaninchen eine doppelte Intoxikation schlecht ertrugen, daß sie hierbei erkrankten und zugrunde gingen. Trotzdem also die Veränderungen des Gasstoffwechsels unter Einwirkung von Thyreoidin einerseits und Adrenalin andererseits scheinbar ent-

gegengesetzte sind, ist in Wirklichkeit die Wirkung dieser Präparate eine sehr komplizierte und berührt wahrscheinlich ganz verschiedene Funktionen des tierischen Organismus. Als bei Kaninchen Nr. 41 unter Einwirkung von Adrenalin sich die charakteristischen Veränderungen des Gasstoffwechsels eingestellt hatten, wurde ihm aus Versehen 0,5 Spermin subcutan injiziert; hiernach veränderte sich das Bild des Gasstoffwechsels sofort: die CO_2-Ausscheidung ging unter die Norm hinab, die O_2-Resorption aber stieg an. Trotz der weiteren Adrenalineinverleibung blieb der Gasstoffwechsel verändert. Die Temperatur steigt unter Einwirkung von Adrenalin gewöhnlich an, erreichen jedoch die Intoxiakationserscheinungen einen bedeutenden Grad, so fällt die Temperatur der Tiere.

Schlußbetrachtungen.

In meinen Untersuchungen bemühte ich mich, die Erscheinungen, welche bei Geisteskranken zu beobachten sind, bei Tieren annähernd experimentell hervorzurufen und außerdem bei letzteren den Gasstoffwechsel zu studieren, was bei kranken Menschen sehr beschwerlich ist. Zwecks Hervorrufung der erwünschten Funktionsstörung wählte ich die Wirkung von Produkten der sog. geschlossenen Drüsen, indem ich entweder die Tiere mit Präparaten dieser Drüsen chronisch vergiftete (Hypersecretio) oder aber einen Teil derselben (Hyposecretio) oder sogar die ganze Drüse entfernte (Asecretio).

Bei geisteskranken Menschen ist, wie wir gesehen haben, die Harntoxizität erhöht oder vermindert; eine Störung der Oxydationsprozesse kann gleichfalls nach der Methode von Nencki und Sieber (Benzoloxydation) konstatiert werden. Wird Tieren Thyreoidin und Adrenalin einverleibt, so kann auch bei ihnen Erhöhung der Harntoxizität hervorgerufen werden; erreichten jedoch die Intoxikationserscheinungen bei Tieren einen bedeutenden Grad, so verminderte sich die Harntoxizität; augenscheinlich konnte der Organismus die toxischen Stoffe nicht mehr verarbeiten, weshalb das Tier bei fortdauernder Intoxikation zugrunde ging. Wurde ein Teil der Schilddrüse abgetragen, so stieg die Harntoxizität stark an, wobei jedoch das Tier sich verhältnismäßig gut fühlte; wurde die ganze Drüse exzidiert, so stieg die Harntoxizität zu Anfang an, dann

aber nahm sie ab, und das Tier starb wahrscheinlich infolge von Anhäufung der giftigen Stoffe im Organismus. Dieselben Erscheinungen würden sich wahrscheinlich nach Exzision der Nebennieren wiederholen. Spermineinverleibung und Testikelexzision wirkten gleichfalls auf die Harntoxizität ein, jedoch erreichten diese Veränderungen nie einen so bedeutenden Grad und waren nicht so deutlich wie bei Adrenalinintoxikation und namentlich dem Thyreoidismus und der Thyreoidektomie. Eine Verminderung der Oxydationsprozesse konnte bei Tieren nach der Thyreoidektomie, bei schwerer Thyreoidin-, Adrenalin- und Sperminintoxikation beobachtet werden. Eine Verstärkung der Oxydationsprozesse fand ich bei Thyreoidin- und Adrenalinintoxikation, nach der Kastration und in einigen Fällen von Sperminintoxikation. Was den Gasstoffwechsel anbetrifft, so stieg er unter Einwirkung von Thyreoidin an, solange sich keine schweren Intoxikationserscheinungen eingestellt hatten, wobei hauptsächlich die O_2-Resorption verstärkt war. Angewachsen war der Gasstoffwechsel auch in einigen Fällen von Sperminintoxikation, obgleich bestimmte Resultate in dieser Beziehung nicht erzielt werden konnten. Nach der Kastration war der Gasstoffwechsel zu Anfang sogar erhöht, dann aber verminderte er sich. Unter Einwirkung einer chronischen Intoxikation mit kleinen Adrenalindosen stieg die CO_2-Ausscheidung an, während die O_2-Resorption abnahm oder unverändert blieb. In Fällen schwerer Intoxikation nahm ebenso wie bei schwerem Thyreoidismus der Gesamtstoffwechsel ab. Die Verstärkung oder Verminderung der Oxydationsprozesse verlief in bedeutendem Grade der entsprechenden Veränderung des Gasstoffwechsels parallel, obgleich nicht stets in vollem Maße. So stieg z. B. unter Einwirkung von Adrenalin die Benzoloxydation stark an, dasselbe fand mit der CO_2-Ausscheidung statt, während die Menge des resorbierten O_2 sogar abnahm. Diese Erscheinung konnte von sehr vielen Ursachen abhängen. Bei Verstärkung der Oxydationsprozesse im Organismus wirkt auf die Menge der ausgeschiedenen CO_2 und des resorbierten O_2 vor allem der Charakter der Stoffe, welche hauptsächlich der Oxydation unterliegen, ein. Das Verhältnis zwischen CO_2 und O_2 ist ein verschiedenes, je nachdem ob Eiweißstoffe und Fette oder Kohlenhydrate einer energischen Oxydation unterworfen werden.

Des weiteren kann die Bestimmung der CO_2- und O_2-Menge im Laufe eines bestimmten Zeitraumes nicht immer als Maß der Oxydationsprozesse während dieses Zeitraumes dienen. Im Organismus finden sich zahlreiche Ursachen, welche eine ziemlich lang andauernde Retention der entstandenen CO_2 bedingen können, den zur verstärkten Oxydation erforderlichen O_2 aber kann sich der Organismus nicht nur durch Atmung aus der Luft, sondern auch aus in den Geweben enthaltenen Stoffen durch verschiedene, im Organismus stattfindende chemische Prozesse verschaffen.

Wie Untersuchungen von Spallanzani, Hermann und Pflüger (96) beweisen, verläuft der O_2-Verbrauch und die CO_2-Produktion nicht parallel, sondern bestehen zwischen ihnen verschiedene Zwischenglieder; Pasteur und Berthelot (97) aber haben, freilich an niederen Organismen, nachgewiesen, daß CO_2-Produktion sogar ohne gleichzeitige O_2-Resorption stattfinden kann.

Außerdem sind Tatsachen bekannt, welche zeigen, daß in den Lungen sehr komplizierte Prozesse und nicht nur der gewöhnliche Gasstoffwechsel durch Diffusion stattfinden. Ich weise auf die Versuche von Bohr und Henriques hin, welche nachgewiesen haben, daß die Lungenzellen während der Atmung aktiv funktionieren, daß die Lungen wahrscheinlich durch innere Sekretion den Sauerstoffgehalt des Blutes verändern, den Sauerstoff zwischen Blutkörperchen und Plasma verteilen und daß die Lungenzellen die Substanzen des Blutes umsetzen können, indem sie ihnen Kohlensäure entnehmen und Sauerstoff hinzufügen. Hieraus geht hervor, daß sich die frühere Lehre von der Lungentätigkeit verändert hat und daß also die Frage von dem Gasstoffwechsel als eine kompliziertere anzusehen ist. Weiter bestätigen meine Beobachtungen die wichtige Bedeutung der Schilddrüse und der Nebennieren für den tierischen Organismus überhaupt und für die Oxydationsprozesse im speziellen vollkommen. Was die Testikeln anbetrifft, so ergab sich, daß die Oxydationsprozesse nach deren Exstirpation wenig beeinflußt werden oder sogar ein wenig anwachsen. Das Poehlsche Spermin kann durchaus nicht als eine für den gesunden Organismus indifferente Substanz angesehen werden, jedoch ist seine Wirkung auf die Oxydationsprozesse eine un-

bestimmte und jedenfalls geringere, als die des Thyreoidins und Adrenalins. Die Darreichung von Spermin an Tiere, die mit Thyreoidin oder Adrenalin vergiftet worden sind, übt keine sichtliche günstige Wirkung auf die Tiere aus. Bei Tieren, bei welchen infolge von Exstirpation der Schilddrüse Oxydationsprozesse und Gasstoffwechsel beeinträchtigt sind, kann man diese Störung in bedeutendem Maße durch Thyreoidineinverleibung beseitigen. Die Wirkung des Thyreoidins und Adrenalins spielt sich an verschiedenen Stellen ab. In der Literatur finden sich schon Angaben über den Zusammenhang zwischen den Funktionen der Geschlechtsdrüsen, der Schilddrüse und der Nebennieren. Meine Untersuchungen veranlassen mich, auch diesen Zusammenhang anzuerkennen.

Das Studium dieser Wechselwirkung kann uns der Erklärung vieler komplizierter normaler und krankhafter Krankheitsprozesse näher bringen und wird vielleicht den Psychiatern die Möglichkeit geben, das Wesen jener Stoffwechselstörungen, deren Ergebnis verschiedene psychische Degenerationen und Geisteskrankheiten sind, näher zu studieren. Die Aufgabe des Irrenarztes besteht darin, die bei der Untersuchung Geisteskranker erhobenen Befunde mit den Ergebnissen der Tierversuche in Zusammenhang zu bringen. Hierbei könnte es gelingen, neue Behandlungsmethoden mit verschiedenen physikalischen Agenzien, Organextrakten und sonstigen Medikamenten auszuarbeiten und zu prüfen. Unter den Medikamenten finden sich auch solche, die auf Oxydationsprozesse und Gasstoffwechsel einwirken. Ich weise auf die vor kurzem veröffentlichten Untersuchungen von Krawkow (99), Krajewski (100), Glagolew (101), Spalwing (102) u. a., welche nachgewiesen haben, daß einige Medikamente, wie z. B. Chloralhydrat, Sulfonal, Pilocarpin und Hedonal den Gasstoffwechsel vermindern, während andere, wie z. B. Coffein, Atropin und Strychnin ihn verstärken. Morphium und einige andere Medikamente wirken je nach ihrer Quantität und wahrscheinlich auch der Tierspezies. Kraepelin schreibt schon im Jahre 1896 in seinem Lehrbuche der Psychiatrie, daß die pathologische Anatomie uns zur Erkenntnis des Wesens der pathologischen Prozesse bei Geisteskrankheiten verhelfen kann, daß jedoch in dieser Beziehung das Studium der Wirkung von Giften viel wichtiger ist und

daß Versuche an Tieren uns die Wirkung dieser Stoffe auf das Nervengewebe nachweisen können. Obgleich diese Behauptung Kraepelins auch nicht zurückzuweisen ist, so muß man jedoch anerkennen, daß für die Psychiatrie das Studium der vitalen Prozesse bei Funktionsstörungen der geschlossenen Drüsen noch weit wichtiger ist.

Literatur.

1. Lundborg, Eine Hypothese betreffend d. Natur d. katatonischen Symptomenkomplexes. Centralbl. f. Nervenheilkunde u. Psychiatrie 1905. — 2. E. Herthoge, De l'hyperthyreoidie bénigne chronique ou myxoedème fruste. Nouvelle Iconographie de la Salpêtrière 1799, Nr. 4. — 3. M. Nencki und N. Sieber, Über eine neue Methode, die physiologische Oxydation zu messen, und üb. d. Einfluß d. Gifte u. Krankheiten auf dieselbe. Pflügers Archiv 81. — 4. Grundzüge einer rationellen Organotherapie v. J. Tarchanow, A. Poehl, sowie andere Abhandlungen v. A. Poehl im Journ. f. medizinische Chemie (russisch). — 5. Robin, Bulletin de la societé med. des hôpitaux 1886. — 6. Hammarsten, Lehrbuch d. physiologischen Chemie. — 7. B. Sslowzow, Zur Lehre von den Oxydasen Diss. 1899 (russisch). — 8. N. Sieber, Über Oxydationsfermente. Russkij Wratsch 1902 (russisch). — 9. N. Danilow, Die Rolle des Fermentes im Leben der Organismen. Medizinskoje Obosrenije 1907 (russisch). — 10. A. Juschtschenko, Über Oxydationsprozesse im Organismus Geisteskranker und über deren Harntoxizität. Obosrenije Psichiatriji 1907 (russisch). — 11. Claude et Baltazard, Toxité urinaire dans les rapports avec l'isotonie. Journal de physiol. et de pathol. 1900. — 12. P. Albitzki, Der Stoffwechsel im tierischen Organismus unter Einwirkung an kohlensäurereicher Luft. Wratsch 1885 (russisch). — 13. A. Baumann, Tafeln zur Gasometrie. 1875. — 14. Gley, Les résultats de la thyreoidectomie chez le lapin. Arch. de physiologie 1893. — Glandes thyreoides et glandules parathyreoides. Presse medicale 1898. — 15. H. Munk, Untersuchungen über d. Schilddrüse. Sitzungsber. d. preuß. Akad. d. Wissensch. 1887. — Zur Lehre v. d. Schilddrüse. Virchows Archiv 150, 1897. — 16. Edmunds, Further observat. and experiments on the thyreoid and parathyreoid. Journal of Pathol. and Bakteriology 1899. — 17. Moussu, Sur la fonction thyreoidienne. Crétinisme expérimentale. Compt, rend, de la soc. de bioiogie 1892. — 18. Vassale e Generali, Sugli effetti dell' estirpatione delle glandole parathyr. Rivista di pattologia nerv. e mentale 1, 1896. — 19. P. Jeandelize, Insuffisance thyreoidienne et parathyreoidienne, 1903. — 20. Hofmeister, Experimentelle Untersuchungen über d. Folgen d. Schilddrüsenverlustes. Beitr. z. klinischen Chirurgie 1894. — 21. Akopenko, Über d. Einfluß d. Thyreoidektomie auf d. Wachstum u. d. Entwicklung d. Knochen- u. Nervensystems junger Tiere. Neirologitscheskij Westnik 1898 (russisch). — 22. Horsley,

Note on a possible means of arresting the progr. of Myxoedema. Brit. medic. Journ. 1891. — 23. Fox, A case of myxoedema treated by taking of an extract of thyreoid by the month. Ibid. 1892. — 24. Murray, Note on the treatment of Myxoedema by hypodermia injections of an extract of thyreoid gl. Ibid. 1892. — 25. Mackenzie, A case of myxoedema treated. Ibid. — 26. A. Gerwer, Über Anwendung von Schilddrüsenpräparaten bei Geisteskrankheiten. Obosrenije Psichiatriji 1897 (russisch). — 27. Pilcz, Jahrb. f. Psychiatrie u. Neurologie 20. — 28. Latorjet, Des psychoses d'origine thyroidienne et leur traitement chirurgicale. Lyon medicale 1904. — 29. C. Pathon, Un cas de mélancolie avec hypertrophie thyroid. Succedant à la ménopause. Revue neurolog., 1904. — 30. Baumann, Über d. normale Vorkommen von Jod im Tierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 1895. — 31. Zit. nach Hammarsten, Petrowski und Jeandelize. — 32. Vermehren, Über Behandlung des Myxoedems. Deutsche med. Woehenschr. 1893. — 33. Boos, Über d. Einfluß d. Schilddrüse auf d. Stoffwechsel. Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 1898. — 34. Gluzinski i Lemberger, Przeklad lekarski 1896, Nr. 5, 12 u. 19. — 35. Ver Eecke, Etude sur l'influence du corps thyroide sur les échanges organiques. Arch. internat. de pharmacologie 4, 1892. — 36. Petrowski, Über d. Wirkung d. Schilddrüsenexstirpation auf d. Stoffwechsel. Woprossy neronopsich. Mediciny 1904 (russisch). — 37. Schryner, Journ. of Physiol., 1905, 32. — 38. Ducceschi, Beitr. z. Erforschung d. Stoffwechselvorgänge b. thyreoidektom. Tieren. Centralbl. f. Physiol., 1896. — 39. Michelsen, Über d. Einfluß d. Thyreoidektomie auf d. Gaswechsel v. Katzen. Diss. 1879 (russisch). — 40. Schlotthauer, Über d. Einfluß d. Schilddrüsenexstirpation auf d. Stoffwechsel d. Kaninchen. Diss. 1896. — 41. Laulame, Sur la toxicité urinaire après la thyreoidectomie Compt. rend. 1894. — 42. W. Geinatz, Altes und Neues über die Schilddrüse. Diss. 1894 (russisch). — 43. Brown-Séquard, Des effets produits chez l'homme par les injections souscutanées d'un liquide retiré des testicules frais de cobaye et de Chien. Comptes rendus de la Soc. de biologie 1889. — 44. Zeitschr. f. med. Chem., Pharmazie und Organotherapie von A. Poehl 1892 bis 1903 (russisch). — 45. A. Poehl, Die chemisch-physiologischen Grundlagen der Spermintheorie. St. Petersburg 1899 (russisch). — 46. I. Tarchanow, A. Poehl u. a., Grundlagen der rationellen Organtherapie im Zusammenhang mit der Lehre von der Urosemiologie. St. Petersburg 1906. Die Heilwirkung des Poehlschen Spermins bei verschiedenen Krankheiten. St. Petersburg 1907 (russisch). — 47. Fürbringer, Über die neue Methode der Behandlung mit Gewebsflüssigkeiten, 1893. — 48. A. Poehl, Über den Sperminbefund in verschiedenen Organen des tierischen Körpers und über den chemischen Bestand der Brown-Séquardschen Emulsion. „Wratsch" 1892 (russisch). — 49. Charcot et Robin, Comptes rendus d. l. Soc. d. biologie 1853. — 50. Schreiner, Annales de Chimie 1878. — 51. The medical age 1899. — 52. Pharm. Centralhalle 1889. — 53. C. Ewald, Handb. d. allgem. u. speziell. Arznei-

verordnungslehre, 1898. — 54. Armand Gautier, Zit. nach Fürbringer. — 55. Zit. nach Poehl. — 56. Deutsche med. Wochenschr. 1895. — 57. Loewy u. Richter, Über d. Einfluß v. Fieber u. Leukocytose a. d. Verlauf v. Infektionskrankheiten. Ebenda 1895. Z. Biologie d. Leukocyten. Virchows Archiv 151, 1898. — 58. G. Epifanow, Über die Einwirkung subcutaner Spermin- und Moschusinjektionen auf den morphologischen Blutbestand gesunder und kranker Menschen (russisch). — 59. Kuljabko, Pharmakologische und toxikologische Untersuchungen am ausgeschnittenen Herzen, 1904 (russisch). — 60. A. Kakowsky, Die Wirkung verschiedener Substanzen auf das ausgeschnittene Herz von Kalt- und Warmblütern, 1904 (russisch). — 62. Loewy u. Richter, Geschlechtsfunktionen und Stoffwechselvorgänge, 1900. — 63. Bilharz-Kremer u. White. Zit. nach Loewy u. Richter. — 64. Liprandi, Kurze Übersicht über das russische Sektierertum, 1870 (russisch). — 65. Melnikow, Zur Geschichte der Chlysty und der Skopzen, 1872 (russisch). — 66. Pelikan, Gerichtlich-medizinische Untersuchungen über das Skopzentum (russisch). — 67. G. Brown-Séquard, Recherches expériment. sur la physiologie et la pathologie des capsules surrénales. Arch. génér. de médecine 1756. — 68. A. Kryschtopenko, Die Exstirpation der Nebennieren bei Kaninchen. Archiv biologitscheskich Nauk. 12 (russisch). — 69. P. Langlois, Les capsules surrénales, Paris 1897. — 70. Szymonowicz, Die Funktion der Nebenniere, Pflügers Archiv 1896. — 71. J. Kudinger, Zur Lehre von der Funktion der Nebennieren, Diss. 1898 (russisch). — 72. H. u. A. Christiani, Recherches sur les capsules surrénales. Journ. de physiol. et de pathol. générale 4, 1902. — 73. A. Vulpian, Note sur quelques réactions propres à la substance des capsules surrénales. Comptes rendus hebd. de l'Acad. des Sciences de Paris 1856. — 74. P. Pellacani, Sull'azione tossica della diluzion acquose degli organi freschi. Riviste speriment. di fren. 1880. — 75. N. Cybulski, Über die Funktion der Nebennieren. Wojenwno. Medizinskij Journal 1896 (russisch). — 76. G. Oliver u. E. Schäfer, On the physiolog. action of extract of the suprarcn. capsules. The Journ. of Physiology 1894—1895. — 77. C. Fr. Krukenberg, Die farbigen Derivate der Nebennieren-Chromogens. Virchows Arch. 1885. — 78. S. Fränkel, Beiträge z. Physiol. u. physiol. Chemie der Nebenniere. Wien. mediz. Blätter 1896, Nr. 14. — 79. O. v. Fürth, Zur Kenntnis der brenzkatechinähnlichen Substanz in den Nebennieren. Hoppe-Seylers Zeitschr. für physiologische Chemie 24, 1898 und 28, 1900. — 80. J. Abel, Über den blutdruckerregenden Bestandteil der Nebenniere. das Epinephrin. — 81. Jokichi Takamine, The isolation of the active principle of the suprarenal glaud. Americ. Journ. of Physiol. 1901. — 83. Stolz, Über Adrenalin u. Alkylaminoacetobrenskatechin. Chemische Berichte 37. — 84. P. Belawenez, Zur Frage von der Wirkung des Adrenalins auf den tierischen Organismus, 1903 (russisch). — 85. S. Ssaweljew, Über die Wirkung subcutaner Adrenalininjektionen auf d. Blut u. üb. d. Adrenalinimmunität, 1904 (russisch). —

86. B. Ssimonowicz, Zur Frage von der Wirkung u. Anwendung des Adrenalins 1903 (russisch). — 87. O. Josué, La vasoconstriction determinée par l'adrénaline n'est par due aux centres sympathiques. Compt. rend. 1903, Nr. 1. — 88. Z. Orlowski, Über künstliche Atheromatose der Aorta bei Kaninchen, welche durch Adrenalin-, Digelen- und Strophantininjektion hervorgerufen wird. Russkij Wratsch. 1905, Nr. 48 (russisch). — 89. L. Lawrowa, Über die Wirkung des Jods auf pathologische Gefäßveränderungen, welche durch Adrenalineinverleibung bei Tieren hervorgerufen werden. Archiv biologitscheskich Nauk 13 (russisch). — 90. F. Blum, Über Nebennierendiabetes. Arch. f. klin. Med. 71, 1901. — 91. C. A. Herter, Adrenalinglycosuria in its relation to human diabetes. Medic. Record. 1902. — 92. Ch. Bouchard et Henri Claude, Recherches expérimentales sur l'adrénaline. Compt. rend. 1902. — 93. Venauti, zit. nach Kryschtopenko. — 94. Goljachowski, zit. nach Kryschtopenko. — 95. I. Tarchanow, Über einige physiologische Wirkungen des Adrenalins auf den tierischen Organismus. Russkij Wratsch. 1902 (russisch). — 96. Spallanzani, Hermann, Pflüger, zit. nach Bohr et Henriques. — 97. Pasteur, Berthelot, zit. nach Bohr et Henriques. — 98. Ch. Bohr et V. Henriques, Recherches sur le lieu de la consommation de l'oxygène et de la formation de l'acide carbonique dans l'organisme. Arch. de physiol. norm. et path. 1897. — 99. N. Krawkow, Über die Wirkung von Giften auf den Gasstoffwechsel der Tiere. Russkij Wratsch. 1903, Nr. 19 (russisch). — 100. Krajewskij, Über die vergleichende Wirkung des Morphiums u. seiner verschiedenen Derivate. Diss. 1902 (russisch). — 101. M. Glagolew, Über die Wirkung von Schlafmitteln auf den Gasstoffwechsel von Tieren. Diss. 1903 (russisch). — 102. P. Spalwing, Zur Frage von den Gasstoffwechselveränderungen bei Tieren unter Einwirkung von Coffein, Morphium, Strychnin usw. Diss. 1904 (russisch).

Über die Beeinflussung der Antigenwirkung durch Lecithin und Organlipoide und deren Beteiligung am Immunisierungsprozeß.

Von

E. P. Pick und Oswald Schwarz.

(Aus dem k. k. serotherapeutischen Institute in Wien.)

(Eingegangen am 12. Dezember 1908.)

I.

Immer zahlreicher werden in der letzten Zeit Arbeiten, welche die Bedeutung gewisser fettartiger Körper bei verschiedenen Immunphänomenen und diesen ähnlichen Prozessen zum Gegenstand haben. Die chemische Provenienz dieser Lipoide ist eine sehr verschiedene und ihre Zusammenfassung zu einer Gruppe gründet sich vorläufig nur auf ihre gemeinsame Eigenschaft, sich in organischen Lösungsmitteln zu lösen, die als gebräuchliche Fettsolvenzien gelten.

Bei kritischer Durchsicht der vorhandenen Literatur zeigt sich, daß die Rolle der Lipoide im wesentlichen darin besteht, daß sie in den Ablauf einer spezifischen Immunreaktion vorwiegend durch ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften eingreifen: durch Adsorption, Beeinflussung der Oberflächenspannung, Änderung des Lösungsmittels (Milieu) usw. Denn wenn auch aus den Untersuchungen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern v. Eisler (1), Jagič (2), Dautwitz (3), H. Ehrlich (4), Raubitschek (5), dann von Kyes und Sachs (6), Bayer (8), Noguchi (9) u. a. m. mit Sicherheit hervorgeht, daß den Lipoiden bei den Phänomenen der Bactericidie, Hämo- und Cytolyse eine selbständige Rolle zukommt, so scheint doch in den Fällen, in denen eine spezifische Wirkung hervortritt, diese an die Eiweißkörper oder — wie Landsteiner und v. Eisler (10) speziell für die Hämolyse hervorheben — an eine Kombination derselben mit Lipoiden gebunden zu sein.

Allerdings ist der Nachweis der Eiweißnatur der hier in Betracht kommenden Körper oft dadurch erschwert, daß ihre ursprünglichen charakteristischen physikalisch-chemischen Eigenschaften, deren Nachweis uns geläufig ist, durch Verbindungen mit anderen Körpern verdeckt werden. Allgemein bekannt ist ja, daß Kolloide ihre Eigenschaften gegenseitig beeinflussen, so daß sie ihren ursprünglichen Charakter vollständig ändern; hierher gehören, um nur einige Beispiele anzuführen, die sog. Schutzwirkung der Kolloide gegen Ausflockung, die Alkohollöslichkeit von an sich alkoholunlöslichen Albumosen in Mastixemulsion (Michaelis und Rona [11]), die Chloroformlöslichkeit von Fermenten bei Gegenwart von Lecithin (Reiss [12]). Auch biologische Eigenschaften können eine mehr oder minder tiefgreifende Änderung erfahren: so fand Kyes [13], daß sein Cobralecithid, das nach neuesten Untersuchungen ein Gemenge von Cobragift und Lecithin darstellt, von dem Calmetteschen Antivenin nicht mehr angegriffen wird, und ebensowenig wird es nach Untersuchungen von Morgenroth und Carpi (14) von Pepsin verdaut.

Die angeführten Beispiele sowie zahlreiche andere Erfahrungen zeigen, daß es sich bei diesen Kolloidgemengen um Komplexe handelt, die sich vielen physikalischen, vor allem aber zahlreichen biologischen Prozessen gegenüber wie neue chemische Individuen verhalten, so daß es vom biologischen Standpunkte als unwesentlich erscheint, ob man in diesen Fällen von Gemengen oder echten chemischen Verbindungen spricht.

Wir haben nun in den folgenden Untersuchungen versucht, den Unterschied der Wirkung eines Antigens festzustellen, wenn es einmal in der üblichen Kochsalzlösung, das andere Mal mit verschiedenen Lipoiden emulgiert in den Tierkörper eingeführt wurde. Diese Versuchsanordnung schien uns auch deshalb von besonderem Interesse, weil wir bei dieser Art der Einverleibung den im Organismus herrschenden Verhältnissen am nächsten zu kommen hofften. Es ist ferner nicht unmöglich, daß dieses Prinzip der Darreichung für die Aufnahme und Verarbeitung körperfremder, auf parenteralem Wege einverleibter Stoffe ganz allgemein große Bedeutung besitzt, da es einleuchtend ist, daß der Organismus auf Stoffe, die ihm in dieser ihm adäquateren Form dargeboten werden, anders reagiert als bei der

Darreichung chemisch rein isolierter Substanzen. Spielen sich doch, wie man aus zahlreichen Erfahrungen weiß, viele der wichtigsten Lebensprozesse in einem mit Lipoiden angereicherten Milieu ab, wobei hier nur auf die wichtige Funktion der Lipoidhülle der Blutelemente und auf die Wirkung der Lipoidbestandteile der nervösen Elemente hingewiesen werden soll. Einschlägige Versuche, dieses Prinzip auf Details des Stoffwechsels zu übertragen, sind bereits im Gange.

Wir verwendeten als Antigen Typhus-, Coli- und Cholerabakterien, da deren antigene Wirkung in Salzaufschwemmungen genau studiert ist und die betreffenden Immunsera leicht herzustellen waren; von Lipoiden kamen Lecithinemulsionen in physiologischer Kochsalzlösung und alkoholische Extrakte aus verschiedenen Organen in Verwendung. Als Reagens diente uns der Agglutinationstitre der erhaltenen Immunsera, der einerseits durch Prüfung mit nativen Bakterien, andererseits mit Bakterien-Lipoidemulsionen festgestellt wurde.

II. Agglutinogene Wirkung der Typhusbakterien in 1°/₀iger Lecithinemulsion.

Wir schwemmten drei 24stündige Typhus-Agarkulturen in 10 ccm phys. Kochsalzlösung auf und emulgierten darin 0,1 g Lecithin (Merck). Die Emulsionen wurden hierauf einige Stunden kräftig geschüttelt und über Nacht im Brutschrank gelassen. Am nächsten Tage wurden Kaninchen mit 0,1 ccm dieser Emulsion + 4 ccm phys. Kochsalzlösung subcutan resp. intraperitoneal injiziert; in zwei Versuchen waren die Bakterien, bevor sie mit Lecithin emulgiert wurden, 1 Stunde auf 63° erhitzt worden. — Als Kontrolle dienten einerseits Tiere, die 0,1 ccm einer 1°/₀igen Lecithinemulsion subcutan erhalten hatten, andererseits solche, die mit 0,1 ccm einer Aufschwemmung von Typhusbakterien in Kochsalzlösung vorbehandelt waren; die Bakterien-Aufschwemmung enthielt gleichfalls 3 Kulturen in 10 ccm phys. Kochsalzlösung, wurde kräftig geschüttelt und über Nacht im Brutschrank belassen.[1])

[1]) Sowohl bei diesen wie auch bei den folgenden Versuchen wurde die Reaktion der betreffenden Lipoid-Emusionen sorgfältig berücksichtigt und die durch eventuelle Reaktionsänderung mögliche Beeinflussung der Ausflockung durch entsprechende Kontrollversuche ausgeschlossen.

Am 8. Tage nach der ersten Injektion wurden Blutproben entnommen und die Immunsera auf ihren Agglutinationstitre auf native Typhusbakterien ausgewertet. Wir beobachteten durchwegs die Agglutination nur makroskopisch: 0,5 ccm steigernder Serumverdünnungen wurden mit 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung versetzt, und nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurden die Proben abgelesen.

Die folgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung der Resultate.

Es zeigt sich nun, daß die Sera der mit Typhusbakterien-Lecithinemulsionen subcutan vorbehandelten Tiere einen auffallend hohen Titre besitzen, während die Tiere bei intraperitonealer Injektoin viel schwächer reagierten. Ganz beträchtlich geringer aber erscheint die antigene Wirkung derjenigen Emulsionen, die mit erhitzten Bakterien hergestellt waren.

Bereits Bassenge (15) hatte Kaninchen mit Typhusbakterien-Lecithinemulsion immunisiert, um sie gegen nachfolgende Infektion mit Typhusbakterien zu schützen und deutete seine scheinbar positiven Resultate dahin, daß die bakteriolytische Eigenschaft des Lecithin dieses befähigt, sämtliche Leibessubstanzen der Bakterien in qualitativ und quantitativ vollständigerer Weise zu extrahieren, als es mit den bisher üblichen Extraktionsmitteln gelungen war. Es fragt sich nun, ob sich die von uns beobachtete recht beträchtliche Steigerung des immunisatorischen Effektes der Injektion der Typhusbacillen in Lecithinemulsion auf analoge Weise erklären läßt. In der Tat hat Brieger (16) durch Injektion kleinster Mengen seiner Kochsalzschüttelextrakte ähnlich hohe Agglutinationswerte erzielt. Das Verfahren würde also dahin hinauslaufen, daß in der Typhusbakterien-Lecithinemulsion absolut größere Mengen Antigen dem Tiere einverleibt würden, wodurch eine kräftigere Reaktion des Tieres verursacht wird. Gegen eine solche sozusagen rein physikalische Wirkungsweise des Lecithins scheint uns jedoch der relativ geringe Erfolg bei intraperitonealer Injektion zu sprechen, was um so mehr ins Gewicht fällt, als bei den günstigen resorptiven Fähigkeiten des Peritoneums gerade in diesen Fällen besonders gute Resultate zu erwarten wären. Vielleicht legt gerade diese Tatsache die Möglichkeit einer anderen Auffassung des ursprünglichen Prozesses nahe, nämlich die, daß das Lecithin mit den Leibessub-

Tabelle I.

Versuch Nr.	Injektion von 0,1 ccm	Applikations-art	Serumverdünnungen															
			$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{70}$	$\frac{1}{90}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{900}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{1700}$	$\frac{1}{2000}$
93	Typhuslecithin	subcutan	—	—	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	Spur	∅	—	—	—	—	—
32	do.	do.	—	—	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	Spur	—	—	—
32	do. am 8. Tage nach d. 1. Injekt.	do.	—	—	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	in-kompl.	Spur
67	Typhuslecithin	do.	—	—	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	∅	—	—	—	—	—
73	do.	do.	—	—	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	Spur	∅	—	—	—	—	—	—
63	do.	intra-peritoneal	—	kompl.	kompl.	kompl.	in-kompl.	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
84	do.	do.	—	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	Spur	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	Typhuslecithin-(Bakterien vorher erhitzt)	subcutan	kompl.	in-kompl.	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
92	do.	do.	kompl.	ni-kompl.	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
79	Typhusbakterien Emulsion auf 63° erhitzt	do.	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
98		do.	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
99		do.	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
77	Lecithinemulsion 1%	do.	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
68		do.	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

stanzen der Typhusbakterien eine Verbindung eingeht, die vom Peritoneum wieder gespalten oder irgendwie verändert wird. Im Gegensatz zu der zerstörenden Wirkung des Peritoneums auf diese Verbindung würde die subcutane Applikation die Möglichkeit bieten, durch die erhöhte Lipoidlöslichkeit des Antigens eine zweckmäßige Resorption und Ausnutzung durch die antikörperbildenden Organe und hierdurch dann einen höheren immunisatorischen Effekt zu erzielen.

III. Über die ausflockende Wirkung der Typhus-Immunsera auf Lecithin-Typhusbakterien-Emulsionen.

Es war nun von Interesse zu untersuchen, ob es möglich wäre, mit Hilfe dieser Typhusbakterien-Lecithinemulsion einen neuartigen Antikörper zu erhalten, der spezifisch auf sein homologes Antigen reagiert, d. h. die Typhusbakterien-Lecithinemulsion leichter ausflockt als native Typhusbakterien.

Die auf die angegebene Art dargestellten Typhus-Lecithinemulsionen können durch leichtes Zentrifugieren von gröberen Partikeln befreit werden und stellen eine hinreichend homogene und stabile Suspension dar, welche zu den nachfolgenden Versuchen verwendet wurde. Diese wurden derart angestellt, daß 0,5 ccm steigender Serumverdünnung mit 2 Tropfen der Typhus-Lecithinemulsion versetzt und die Röhrchen nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank abgelesen wurden. Die Reaktion besteht in einer typischen Ausflockung, wobei bei „kompletter" Reaktion die Flüssigkeit vollständig geklärt wird.

Die Resultate sind in nebenstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt. Die Nummern in der ersten Kolonne bezeichnen die Kaninchen, von denen das Serum gewonnen wurde (vgl. Tab. I). Vergleichsweise wurde auch das Serum des Pferdes „Edgar" geprüft, das native Typhusbakterien in Verdünnungen 1:20000 noch agglutinierte und durch Vorbehandlung mit nativen Bakterien hergestellt war.

Vergleicht man die hier zusammengestellten Resultate mit denen in Tabelle I, so zeigt sich, daß die Immunsera die Typhus-Lecithinemulsion durchwegs in viel höheren Verdünnungen präcipitieren, als sie native Typhusbakterien agglutinieren. Eine spezifische Reaktion auf Typhus-Lecithinemulsion kann aber nicht

Tabelle II.

Ver-suchs-Nr.	Injektio von 0.1 ccm	Serumverdünnungen																
		1/10	1/20	1/30	1/50	1/100	1/300	1/500	1/600	1/700	1/800	1/1000	1/1500	1/3000	1/5000	1/30 000	1/35 000	1/40 000
93*	Typhuslecithin	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	∅	—	—	—	—	—	—
32	"	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	∅	—	—	—
67	"	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	∅	—	—	—	—
73	"	—	—	—	+++	+++	+++	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
63	"	—	—	—	+++	+++	+	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
84	"	—	—	—	+++	+++	++	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	" (Bakterien vorher erhitzt)	+++	++	++	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
92	"	+++	+++	++	+	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
79	Typhusbakterienemulsion auf 63° erhitzt	++	+	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
98	"	+++	++	++	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
99	"	++	+	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
77	1% Lecithinemulsion	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
68	"	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Edgar-Serum		—	—	—	—	—	—	+++	—	—	—	+++	—	—	—	+++	++	+
Kontrolle mit phys. Kochsalzlsg.		negativ.																

*) Sämtliche Kaninchensera, vor der Injektion untersucht, präcipitierten die Typhus-Lecithinemulsionen gar nicht.

der Grund dieser hohen Empfindlichkeit der Sera sein, da auch das „Edgar"-Serum und die Typhusbakterien-Immunsera von Kaninchen dasselbe Verhalten zeigen. Eine Erklärung für diesen Umstand ist vielleicht darin zu sehen, daß die in den Typhus-Lecithinemulsionen zwischen Lecithin und den Typhusbakterien sich bildende Adsorptionsverbindung früher und leichter mit dem Immunserum ausflockt, bei sonst gleichbleibender Empfindlichkeit der Reaktion, als die Typhusbakterien allein.

Weiter scheint die Tatsache beachtenswert, daß die mit vorher auf 63° erhitzten Typhusbakterien hergestellten Emulsionen ebensowenig durch die verschiedenen Sera ausgeflockt werden, als erhitzte Bakterien allein agglutiniert werden, eine Erscheinung, die unseres Erachtens wohl dahin zu deuten ist, daß die Verbindung zwischen Lecithin und Bakterien in diesem Falle nicht eingetreten ist.

Endlich seien noch Kontrollversuche erwähnt, die lehrten, daß einerseits Typhus-Lecitinemulsionen von normalen Seren — untersucht wurden Kaninchen-, Pferde-, Menschen-Sera — nicht ausgeflockt werden, und daß andererseits die auf die angegebene Weise hergestellten Typhus-Lecithin-Immunsera gewöhnliche Lecithinsuspensionen nicht fällen.

Die im vorhergehenden mitgeteilten Versuche scheinen nun insofern für eine praktische Anwendung geeignet, als sich gezeigt hatte, daß die Ausflockung der Typhus-Lecithinemulsion durch Typhusimmunsera viel rascher und deutlicher eintritt, als die Agglutination von Typhusbakterien, wie sie bei der ursprünglichen Gruber-Widalschen Reaktion verwendet wird. Versuche, die der eine von uns anstellte, haben nun in der Tat ergeben, daß sich diese Ausflockungsmethode auch zu klinischen Zwecken verwenden läßt, wobei ihre Sinnfälligkeit schon in frühesten Stadien der Erkrankung und die leichte Handhabung der völlig sterilen Typhus-Lecithinemulsionen gewisse Vorteile der ursprünglichen Reaktion gegenüber bieten.

IV. Beeinflussung der antigenen Wirkung der Typhusbakterien durch Organlipoide.

Um nun die Art der Einverleibung der Bakterien nach den in der Einleitung entwickelten Vorstellungen den im Orga-

nismus herrschenden Verhältnissen möglichst ähnlich zu gestalten, ersetzten wir das Lecithin durch Organlipoide. Es kamen Serum und Leukocyten vom Pferde, Leber und Niere vom Rind in Verwendung. Die Herstellungsweise der Präparate war folgende: Die Organe wurden in der Fleischhackmaschine zerkleinert und durch gründliches Waschen mit Wasser von Blut möglichst gereinigt. Das Wasser wurde dann tunlichst abgepreßt und die Organe mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols extrahiert. Nach 24 Stunden wurde abfiltriert und das Filtrat am Wasserbade eingedampft. Die in Alkohol aufgenommenen Rückstände wurden abermals auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft und hinterließen einen mehr minder dunkelgelb gefärbten Sirup von der Konsistenz des Lecithins.

In analoger Weise wurde das Serum mit Alkohol extrahiert, die Rückstände des eingedampften Filtrates nochmals mit absolutem Alkohol aufgenommen und die Rückstände nach dem Eindampfen dieser zweiten Extraktion verwendet. — Die Leukocytenlipoide wurden folgendermaßen hergestellt: Nach dem Aderlaß wurde der oberste, fast nur aus Leukocyten und etwas Fibrin bestehende Teil (crusta phlogistica) des Blutkuchens, der bei der Gerinnung des Blutes in hohen Standzylindern sich bildet, abgekappt, mit der Schere zerkleinert und wie die anderen Organe weiter behandelt. — 0,1 g der beim Eindampfen der alkoholischen Extrakte erhaltenen Rückstände wurden nun in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert, in der vorher 3 Typhusagarkulturen aufgeschwemmt waren; diese Emulsionen wurden nun analog den Typhus-Lecithinemulsionen geschüttelt und im Brutschrank gelassen.

0,1 ccm dieser Emulsionen erhielten Kaninchen subcutan, und die 8 Tage nach der ersten Injektion entnommenen Blutproben wurden nun auf dieselbe Weise, wie früher die Immunsera nach Injektion der Typhus-Lecithinemulsionen, auf ihr Agglutinations- resp. Präcipitationsvermögen für native Typhusbacillen und die verschiedenen Typhus-Lipoidemulsionen ausgewertet. Die Kontrollen, in denen statt der Serumverdünnungen physiologische Kochsalzlösung verwendet wurde, waren immer negativ.

Zunächst führen wir eine Übersicht der Agglutinationsfähigkeit der einzelnen Kaninchen-Immunsera auf Typhus-Bazillen an.

Tabelle III.

Kaninchen-Immunserum, hergestellt mit einer Emulsion von Typhusbakterien in	Serumverdünnungen								
	1/100	1/200	1/300	1/400	1/600	1/700	1/1600	1/1800	1/2000
Serumlipoiden (Kaninchen Nr. 60)	—	kompl.	∅						
Leukocytenlipoiden (Kaninchen Nr. 77)	—	—	—	—	—	—	kompl.	inkompl.	∅
Leukocytenlipoiden (Kaninchen Nr. 3)	—	—	—	kompl.	kompl.	∅			
Leukocytenlipoiden (Kaninchen Nr. 2)	—	—	kompl.	∅					
Leberlipoiden (Kaninchen Nr. 64)	kompl.	∅							
Nierenlipoiden (Kaninchen Nr. 68)	kompl.	inkompl.	∅						

Beim Überblicken dieser Tabelle zeigt sich zunächst ein Unterschied in der Wirkung der einzelnen Lipoide, ferner aber eine Differenz in der Wirkung der Lipoide aus Blutbestandteilen gegenüber jener der anderen Organlipoide: während der Agglutinationstitre der Immunsera, gewonnen durch Injektion der Emulsion von Typhusbazillen in Serumlipoiden und Leukocytenlipoiden ein relativ hoher ist, bleiben die Sera, die durch Immunisierung mit einer Emulsion von Typhusbazillen in Leberlipoiden und Nierenlipoiden erzeugt worden sind, in ihrer Wirkung erheblich zurück. Da nun, wie erwähnt, die quantitativen Verhältnisse bei der Herstellung der Emulsion und die zur Injektion verwendeten Mengen in allen Fällen die gleichen waren, sind die Resultate bis zu einem gewissen Grade untereinander vergleichbar, und legen — soweit die individuell wechselnde Empfänglichkeit der Tiere einen solchen Schluß gestattet — den Gedanken nahe, daß die Lipoide der Blutbestandteile ein Milieu schaffen, in dem die Bedingungen zu einer Reaktion zwischen dem zugeführten Antigen und der lebenden Zelle besonders günstige sind.

Entsprechend den im III. Kapitel mitgeteilten Ausflockungsversuchen mit Lecithinemulsionen prüften wir nun die Immunsera einzeln auf ihre Eigenschaft, die verschiedenen Typhusbakterien-Organlipoidemulsionen auszufällen.

Tabelle IV.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in Pferdeserumlipoiden.

Serumverdünnungen	Typhusbacillen emulgiert in			
	Serumlipoiden	Leukocytenlipoiden	Leberlipoiden	Nierenlipoiden
$\frac{1}{100}$	+++	+++	++	+++
$\frac{1}{200}$	+++	++	∅	++
$\frac{1}{300}$	+++	∅	∅	++
$\frac{1}{400}$	+	∅	∅	∅
$\frac{1}{500}$	∅	∅	∅	∅

Tabelle V.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in Leukocytenlipoiden.

Serumverdünnungen	Typhusbakterien emulgiert in			
	Serumlipoiden	Leukocytenlipoiden	Leberlipoiden	Nierenlipoiden
$\frac{1}{200}$	+++	+++	++	+++
$\frac{1}{500}$	++	++	∅	+
$\frac{1}{1000}$	∅	++	∅	∅
$\frac{1}{1500}$	∅	∅	∅	∅

Die Tabelle IV zeigt zunächst die wichtige Tatsache, daß überhaupt Differenzen zwischen den einzelnen Typhus-Lipoidemulsionen in bezug auf ihre Ausflockbarkeit durch das Immunserum bestehen. Weiter lehrt sie, daß die stärkste Wirkung auf das homologe Lipoid ausgeübt wird; weniger gut werden Leukocyten-Lipoidemulsionen ausgeflockt. Daß das Serum auf die Leber- und Nieren-Lipoidemulsionen schlechter wirken würde als auf die andern beiden Emulsionen, wäre schon deshalb zu

Tabelle VI.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in Leberlipoiden.

Serumverdünnungen	Typhusbakterien emulgiert in			
	Serumlipoiden	Leukocytenlipoiden	Leberlipoiden	Nierenlipoiden
$\frac{1}{80}$	+++	+++	+++	+++
$\frac{1}{100}$	∅	∅	+++	++
$\frac{1}{200}$	∅	∅	++	+
$\frac{1}{300}$	∅	∅	+	∅
$\frac{1}{400}$	∅	∅	∅	∅

Tabelle VII.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in Nierenlipoiden.

Serumverdünnungen	Typhusbakterien emulgiert in			
	Serumlipoiden	Leukocytenlipoiden	Leberlipoiden	Nierenlipoiden
$\frac{1}{80}$	+++	+++	++	+++
$\frac{1}{100}$	+++	++	+	+++
$\frac{1}{200}$	+	∅	Spur	+++
$\frac{1}{300}$	∅	∅	∅	+++
$\frac{1}{500}$	∅	∅	∅	+
$\frac{1}{600}$	∅	∅	∅	∅

erwarten, weil diese ersteren Organe von einer andern Tierart, nämlich dem Rind, stammen; um so auffallender ist es, daß die Nierenlipoide in so hoher Verdünnung noch ausgeflockt werden und man wird vielleicht mit Rücksicht hierauf die relativ

schwache Wirkung auf Leber-Lipoidemulsionen eher auf Rechnung der Organ- als der Tierspeziesdifferenz setzen dürfen.

Die Tabelle V bietet keine Besonderheit dar: Serum- und Leucocyten-Lipoidemulsionen werden annähernd gleichgut gefällt, am schlechtesten die Leberlipoide; doch ersieht man auch hier, daß die stärkste Wirkung auf das homologe Lipoid, das Leukocytenlipoid, ausgeübt wird.

Tabelle VI zeigt, daß Leber- und Nierenlipoidemulsionen von dem bezüglichen Immunserum weitaus besser als die Pferdeblutlipoide gefällt werden. Zwischen den beiden Lipoiden besteht eine kleine Differenz zugunsten des homologen Organs.

Das Serum, dessen Wirkung Tabelle VII illustriert, bietet das prägnanteste Bild: Die Wirkung auf das homologe Antigen überragt die auf andere Organlipoide bedeutend; besonders wichtig ist es, daß auch der Leber gegenüber eine bedeutende Differenz zugunsten der Nierenlipoide besteht.

Des Vergleiches halber sei noch ein Serum, das durch längere Vorbehandlung eines Kaninchens mit erhitzten Typhusbacillen gewonnen wurde, hier angeführt (Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Kaninchen-Typhus-Immunserum, gewonnen durch Injektion erhitzter Typhusbakterien.

Serumverdünnungen	Typhusbakterien emulgiert in				Typhusbakterien in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt
	Serumlipoiden	Leukocytenlipoiden	Leberlipoiden	Nierenlipoiden	
$\frac{1}{100}$	++	++	++	++	komplett
$\frac{1}{300}$	+	++	∅	++	inkomplett
$\frac{1}{500}$	∅	+	∅	∅	∅
$\frac{1}{700}$	∅	∅	∅	∅	∅

Diese Tabelle zeigt eine auffallende Übereinstimmung mit Tabelle V, welche die Verhältnise bei der Immunisation mit Typhus-Leukocytenlipoidemulsionen illustriert. In beiden Fällen werden die Lipoide der Blutbestandteile besonders gut gefällt, Leukocytenlipoide noch etwas besser als Serumlipoide; hier wie dort zeigt sich die gleiche Differenz in der Wirkung auf Nieren-

und Leberlipoide zugunsten der ersteren. Berücksichtigt man nun, daß dieses Kaninchen im Gegensatze zu der einmaligen Injektion bei den vorhergehenden Versuchstieren 6—7 Wochen hindurch vorbehandelt wurde, so kann man vielleicht diese Übereinstimmung in dem Wirkungstypus der beiden Sera als einen Beleg für die von uns oben geäußerte Vermutung auffassen, daß die Lipoide der Blutelemente, im besonderen die der Leukocyten, für den Immunisationsprozeß von ganz besonderer Bedeutung sind. Diese Beobachtung scheint auf ältere Erfahrungen hinzuweisen, vor allem auf die klassischen Untersuchungen von R. Pfeiffer und Marx (20) u. a., die gefunden hatten, daß für zahlreiche Antigene in den leukocytenreichsten Organen, wie im Knochenmark und in der Milz, die Ursprungsstätte zu suchen ist.

Wenn wir nun eine Analyse unserer Befunde versuchen, so ist zunächst zu beachten, daß die von uns verwendeten Antigene zwei ganz heterogene Elemente in sich vereinen: einerseits Leibessubstanzen von Typhusbakterien, andrerseits alkoholische Extrakte aus Organen. Würden nun die eben mitgeteilten Ausflockungsprozesse lediglich eine Reaktion auf die Typhusbakterienkomponente der Emulsion darstellen, so müßte man erwarten, daß alle Emulsionen in mehr oder minder gleichem Ausmaße ausgeflockt würden. Dies ist nun nicht der Fall, sondern das Aufschwemmen der Bakterien in Lipoidemulsionen verändert die antigenen Eigenschaften der Bakterien derart, daß das mit diesen Emulsionen hergestellte Immunserum einen mehr oder weniger charakteristischen Typus seiner Wirkung erlangt.

V. Über die Wirkung der Typhusimmunsera auf Organlipoidemulsionen.

Nachdem wir die Wirkung der Immunsera auf den Gesamtkomplex, nämlich auf die Emulsion der Typhusbakterien in den Organlipoiden, und auf die Typhusbakterien allein bereits kennen, bleibt noch ihr Verhalten gegenüber dem Organanteil zu untersuchen. Von diesem Gesichtspunkt aus stehen die Serumlipoide allen anderen untersuchten gegenüber, da sie von einem Immunserum, das durch Injektion einer Emulsion

von Typhusbacillen in Serumlipoiden gewonnen ist, ausgeflockt werden, während die übrigen Organlipoide mit den homologen Immunseren nicht reagieren. Die folgende Tabelle IX zeigt, wie ein derartiges Immunserum am schwächsten auf die Lipoide, viel stärker auf Typhusbacillen und am meisten auf die Kombination beider wirkt.

Es ist uns aber noch gelungen, durch einen Versuch die Bedeutung beider Bestandteile für das Zustandekommen der spezifischen Wirkung des Immunserums, das durch Injektion einer Typhus-Bakterien-Pferdeserum-Lipoidemulsion gewonnen worden, zu demonstrieren: Ersetzt man nämlich in der zu präcipitierenden Emulsion einmal die Typhusbakterien durch Choleravibrionen, das andre Mal die Pferdeserumlipoide durch Rinderserumlipoide, so werden in beiden Fällen die Emulsionen von einem Immunserum, das auf eine Typhusbakterien-Pferdeserumemulsion eingestellt ist, nicht ausgeflockt (s. Tabelle IX). Dieser Versuch scheint zu zeigen, daß gerade die maximalste Ausflockung der Typhus-Bakterien-Pferdeserum-Lipoidemulsion durch das homologe Immunserum ein spezifischer, durch das Zusammenwirken beider Komponenten bedingter Vorgang ist.

Weiter wurde nun ein Kaninchen mit Pferdeserumlipoiden vorbehandelt, und zwar erhielt es im Verlaufe von 7 Wochen 11 Injektionen zu je 5 ccm einer ziemlich dichten Emulsion dieser Lipoide in Kochsalzlösung. Die folgende Tabelle X zeigt die Wirkung dieses Serums.

Die Resultate dieser Tabelle (Tab. X) beanspruchen von mehreren Gesichtspunkten einiges Interesse. Zunächst zeigt sich, daß das Serum dieses Kaninchens die zur Vorbehandlung verwendeten Lipoide in markanter Weise ausflockt, während zahlreiche Kontrollen ergeben haben — wir prüften das Serum von 8 normalen und 5 anderweitig vorbehandelten Kaninchen —, daß diese Wirkung dem Kaninchenserum als solchem nicht zukommt. Es ist demnach zur Entstehung eines auf diese Lipoide eingestellten, scheinbar spezifischen Immunkörpers gekommen, der die Eigenschaft hat, mit den kolloiden Lipoiden des Pferdeserums unter Ausflockung derselben zu reagieren. Andere Organlipoide, z. B. Leukocytenlipoide, oder die der früher erwähnten Organe vom Rind wurden auch nicht in Spuren von diesem Serum ausgefällt.

Tabelle IX.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion einer Emulsion von Typhusbacillen in Pferdeserumlipoiden.

	Pferdeserum-lipoide	Typhus-bakt. in physiolg. Kochsalz-lösung aufge-schwemmt	Typhusbakt. emulg. in Pferdeserum-lipoiden	Typhusbakt. emulg. in Rinder-serum-lipoiden	Cholera-vibrionen emulg. in Pferdeserum-lipoiden
1/10	+++	—	—	∅	∅
1/50	+++	komplett	+++	∅	∅
1/60	+	komplett	+++	∅	∅
1/70	∅	komplett	+++	∅	∅
1/200		komplett	+++		
1/300		∅	+++		
1/400			+		
1/500			∅		

Tabelle X.

Kaninchenimmunserum, hergestellt durch Injektion von Pferdeserumlipoiden.

Serum-verdünnung	Pferdeserum-lipoide	Typhus-bakter. in Pferdeserum-lipoid. emulg.	Leuko-cyten-lipoide	Rinderserum-lipoide	Typhus-bakter. in Rinderserum-lipoiden emul-giert
1/10	+++	∅	∅	+++	∅
1/30	++	∅	∅	+++	∅
1/50	+	∅	∅	+++	∅
1/60	∅	∅	∅	+++	∅

Im Gegensatz hierzu werden die Lipoide des Rinderserums in allen untersuchten Verdünnungen komplett ausgeflockt; diese Fähigkeit ist jedoch kein Erfolg der Immunisierung, sondern kommt schon dem normalen Kaninchenserum zu, und steht vielleicht mit der bekannten Eigenschaft des Rinderserums in Zusammenhang, Lipoide, z. B. Lecithin, auszuflocken (Weil und Braun) (22).

Sehr interessant ist es nun, daß das Serum seine Fähigkeit, Pferde- und Rinderserumlipoide auszuflocken, vollständig verliert, wenn diese Lipoide Typhusbacillen gelöst enthalten. Die gelösten Leibessubstanzen der Bakterien haben die Lipoide in ihrer charakteristischen Eigenschaft derart verändert, daß sie ihrem Immunserum nun nicht mehr als homologes Antigen gegenüberstehen. Endlich sei zur Charakterisierung dieses Immunserums noch erwähnt, daß es mit nativem Pferdeserum keine spezifische Präcipitinreaktion gibt, ein Beweis dafür, daß in dem zur Immunisierung verwendeten Präparat freies, natives Eiweiß sicher nicht vorhanden war.

Die drei Tatsachen, daß nämlich die Emulsionen von Typhusbakterien in den verschiedenen Organlipoiden von ein und demselben Typhus-Immunserum in verschiedener Intensität ausgeflockt werden; daß weiter die Organlipoide als solche, mit Ausnahme der Serumlipoide nicht gefällt werden, wohl aber, wenn sie Typhusbakterien gelöst enthalten; drittens endlich die vorher erwähnte Tatsache der Hemmung der Ausflockung von Serumlipoiden mit dem homologen Immunserum durch Zusatz von Typhusbakterien — lassen sich unter einem gemeinsamen Gesichtspunkt betrachten: In allen diesen Fällen wird nämlich die Wirkung des auf ein Kolloid eingestellten Immunserums durch Zusatz eines zweiten Kolloides in charakteristischer Weise beeinflußt, so daß die Annahme naheliegt, daß es sich in diesen Fällen keineswegs um zwei voneinander getrennte Systeme handelt, sondern daß durch die Lösung des einen Kolloides in dem zweiten ein neues System entstanden ist, das dem ursprünglichen Immunserum gegenüber sich heterolog verhält.

In dem gleichen Sinne läßt sich vielleicht noch folgende Beobachtung deuten (Tab. IX und X): Ein Immunserum, gewonnen durch einmalige Injektion von 0,1 g einer Emulsion

von Typhusbacillen in Pferdeserumlipoiden hat eine viel stärkere Wirkung auf Pferdeserumlipoide als ein Serum, das durch mehrwöchentliche Injektion viel größerer Mengen Serumlipoide hergestellt war. Es wurde hier scheinbar durch die Anwesenheit des Typhusantigens die Reaktion des Organismus auf die Serumlipoide unterstützt und verstärkt.

Es kann sich also in diesen Fällen nicht mehr um ein indifferentes Nebeneinander beider Substanzen handeln, sondern um eine Verbindung, die sich wenigstens vom biologischen Standpunkt aus als ein neues Individuum präsentiert, wobei der physikalische und chemische Charakter dieser Vereinigung dahingestellt bleibt. Die von uns gefundenen Tatsachen zeigen, daß bei der Immunisierung und hiermit im intermediären Stoffwechsel die Lipoide nicht allein indifferente Vehikel für die eingeführten Substanzen darstellen, sondern daß sie speziell beim Immunisierungsprozeß von entscheidender Bedeutung für den qualitativen und quantitativen Ablauf der Reaktion im Tierkörper sind.

Es bleibt uns noch die Frage zu erörtern, inwiefern bei den von uns ausgeführten Immunisierungsversuchen neben den Lipoiden etwa noch Eiweißkörper beteiligt sind. Es ist diese Entscheidung von großer theoretischer Bedeutung, da wir bisher mit Sicherheit nur Antigene von Eiweißcharakter kennen. Gegenüber der Tatsache, daß es gelungen ist, mit alkohollöslichen Körpern — speziell Bakterienextrakten — spezifische Reaktionen zu erzielen (E. P. Pick [16], Levaditi und Muttermilch [17]), muß nach dem in der Einleitung Ausgeführten darauf hingewiesen werden, daß durch die Lösungsfähigkeit von Eiweißkörpern in Lipoiden erstere ihren Charakter derart ändern können, daß sie mit den üblichen Reaktionen häufig nicht mehr nachgewiesen werden können. Daß in unsern alkoholischen Organextrakten kein natives Eiweiß mehr vorhanden war, ergibt sich schon daraus, daß trotz langer Vorbehandlung der Kaninchen mit den Seren derselben keine Präcipitinreaktion zu erzielen war. Trotzdem ist nach unseren eigenen Erfahrungen die Möglichkeit immer noch vorhanden, daß Eiweiß, in Lipoiden gelöst, in die alkoholischen Extrakte übergegangen und in den erwähnten Fällen Träger der spezifischen Wirkung war.

Auf diese Weise erklären wir uns auch den uns gelungenen

Nachweis einer Organspezifität durch Immunisierung mit alkoholischen Organextrakten. Als Beispiel für die Leistungsfähigkeit der Organlipoide als Antigene in der hier gewählten Versuchsanordnung der Kombination mit Bakterienantigenen möchten wir noch anführen, daß es uns bereits mit einmaliger Injektion von 0,001 g Organextrakt gelungen ist, ein in gewissen Grenzen organspezifisches Serum zu erhalten, während Forßner (18) 6 bis 8mal ca. 10 ccm seiner Extrakte injizierte, und Grund (19) durchschnittlich 120 ccm Preßsaft (manchmal auch die doppelte Menge) bei intraperitonealer oder intravenöser Applikation zur Herstellung seiner Sera benötigte.

Zusammenfassung.

Bereits durch die Untersuchungen von Pick und Přibram (21) wurde gezeigt, daß die spezifische Präcipitinreaktion durch lipoidartige Substanzen des Serums bis zu einem gewissen Grade beeinflußt werden kann. Aus den eben angeführten Versuchen ergibt sich, daß auch auf die Antigene im Organismus alkohollösliche, lipoidartige Produkte verschiedener Organbestandteile in hervorragender Weise einzuwirken vermögen. Im speziellen geht dies aus folgenden Befunden hervor:

I. Die Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in 1 $^0/_0$iger Lecithinsuspension ermöglicht, bei Anwendung sehr geringer Mengen in kurzer Zeit relativ hohe Agglutinationswerte auf Typhusbakterien zu erhalten.

II. Typhusimmunsera präcipitieren Typhus-Lecithinemulsionen. Diese Reaktion dürfte sich wegen ihrer Empfindlichkeit und Einfachheit zum klinischen Nachweis einer Typhuserkrankung eignen.

III. Die Organlipoide verhalten sich in Kombination mit Typhusbakterien analog dem Lecithin; es übertreffen die Lipoide der Blutelemente (Serum, Leukocyten) in ihrer Wirkung beträchtlich die anderer Organe (Leber, Nieren), was für ihre Beteiligung beim Immunisierungsprozeß zu sprechen scheint.

IV. Sera, gewonnen durch Injektion einer Emulsion von Typhusbakterien in Organlipoiden, besitzen neben der Spezifität auf Typhusbakterien auch noch eine spezifische Wirkung auf

die homologe Emulsion. Organlipoide als solche werden aber von diesen Seren mit Ausnahme der Serumlipoide nicht präcipitiert.

V. Sera, gewonnen durch längere Vorbehandlung von Kaninchen mit Pferdeserumlipoiden präcipitieren Pferdeserumlipoide, nicht aber diese in Verbindung mit Typhusbakterien.

Normale Kaninchensera fällen Pferdeserumlipoide nicht aus, wohl aber Rinderserumlipoide; durch Zusatz von Typhusbakterien werden sie aber vor der Ausflockung geschützt.

VI. Es scheint sich bei den angeführten Versuchen um die Wirkung von Lipoid-Eiweißverbindungen zu handeln.

Literatur.

1. Landsteiner und v. Eisler, Wiener klin. Wochenschr. 1904, S. 676.
2. Landsteiner und Jagič, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 27.
3. Landsteiner und Dautwitz, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9. 431, 1907.
4. Landsteiner und Ehrlich, Centralbl. f. Bakt. 45, 247, 1907.
5. Landsteiner und Raubitschek, ibid. 45, 660, 1907.
6. Kyes, P. und Sachs, H., Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 2—4.
7. Bayer, G., Sitzungsber. d. Kais. Akadem. d. Wiss., Wien 1907.
8. Noguchi, H., Journ. Exper. Med. Vol. 9, und diese Zeitschr. 6, 327.
9. Landsteiner und v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. 39, 309, 1905.
10. Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 4, Heft 1.
11. Reiß, Berl. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 34.
12. Kyes, Berl. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 19.
13. Morgenroth und Carpi, diese Zeitschr. 1907.
14. Bassenge, Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 4. u. Nr. 29
15. Brieger, Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 27.
16. E. P. Pick, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 1901.
17. Levaditi und Muttermilch, Compt. rend. de la soc. biolg. 1908.
18. Forßner, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 19.
19. Grund, Arch. f. klin. Med. 1906.
20. R. Pfeiffer und Marx, Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt. 1898 u. Deutsche med. Wochenschr. 1898.
21. E. P. Pick und E. Přibram, diese Zeitschr. 11, 418, 1908.
22. Weil, E., und Braun, Wiener klin. Wochenschr. 1908.

Über den Einfluß von Säuren, Alkalien, neutralen Salzen und Kohlenhydraten auf das Trypsin.

Von

T. Kudo, Kioto.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 17. Dezember 1908.)

Das eiweißspaltende Ferment des Pankreas ist schon vielfach Gegenstand eingehender Untersuchung gewesen. U. a. hatte man sich damit beschäftigt, festzustellen, wie weit die eiweißspaltende Wirkung des Trypsins geht, und hat dabei die Beobachtung gemacht, daß die Wirkung des Trypsins in erster Reihe abhängig ist von den Reaktionsbedingungen des Mediums. So hat man beobachtet, daß das Trypsin kräftig wirkt bei neutraler, noch besser bei alkalischer Reaktion und gewöhnlich am besten bei einem Gehalt von 3 bis 4‰ Na_2CO_3. Nach den Untersuchungen von Dietze und Kanitz (1) hängt die Wirkung der Alkalien ab von der Anzahl der Hydroxylionen, und zwar verläuft die Verdauung nach der Untersuchung von Kanitz am besten in solchen Lösungen, welche in bezug auf Hydroxylionen $^1/_{70}$ bis $^1/_{200}$ normal sind. Andrerseits hat man gefunden, daß Mineralsäuren selbst in sehr kleinen Mengen die Verdauung gänzlich hemmen können; organische Säuren sollen weniger störend wirken, und bei einem Gehalt von 0,2‰ Milchsäure hat Lindberger (2) sogar eine raschere Wirkung feststellen können, als in einer schwach alkalischen Flüssigkeit, wenn gleichzeitig Galle und Kochsalz in dem Gemisch vorhanden waren. — Auch die Wirkung von neutralen Salzen wurde vielfach untersucht, am eingehendsten zuerst von Podolinsky (3). Er fand, daß alle Salze die Trypsinwirkung be-

fördern, daß aber die Intensität ihres Einflusses sehr verschieden ist; Natronsalze sollen in ihrer Wirkung am stärksten sein. — Alle hier mitgeteilten Resultate sind teils bestätigt, teils bestritten worden. Es würde aber zu weit führen, wollten wir sämtliche Arbeiten hier ausführlich besprechen.

Der Grund für diese mannigfaltigen Widersprüche dürfte in erster Reihe darin zu suchen sein, daß bei der Untersuchung der Trypsinwirkung die verschiedensten Methoden mit den verschiedensten Eiweißkörpern zur Anwendung kamen.

Da nun durch das neuerdings von Fuld (4) mitgeteilte Verfahren die Möglichkeit gegeben war, alle noch strittigen Punkte in einheitlicher Weise zu entscheiden, haben wir uns die Aufgabe gestellt, den Einfluß von Säuren, Alkalien, neutralen Salzen usw. bei der Wirkung des Trypsins auf das Casein eingehend zu untersuchen. Nicht in letzter Linie leitete uns dabei der Gedanke, daß diese Fragen augenblicklich nicht bloß ein theoretisches, sondern auch ein praktisches Interesse haben. Denn wie Boldyreff (5) gezeigt hat, tritt nach Genuß von Öl Darminhalt (Pankreassaft + Darmsaft + Galle) in den Magen über, und wie aus mehrfachen klinischen Untersuchungen hervorgeht [Vollhardt, Mohr (6) u. v. a.], ist man auf diese Weise in der Lage, Pankreassaft des Menschen auf seinen Gehalt an Fermenten zu untersuchen. In erster Reihe hat man sich mit dem Gehalt des Pankreassaftes an Trypsin beschäftigt und ist dabei zu recht schwankenden Resultaten gekommen. Es liegt nun nahe, daran zu denken, daß hierbei die Reaktionsverhältnisse eine große Rolle spielen, denen der Pankreassaft bei seinem Rücktritt aus dem Darm in den Magen begegnet. Ohne uns zunächst in eine weitere Diskussion über diesen Punkt einzulassen, wollen wir uns nunmehr dazu wenden, die Resultate unserer Untersuchungen mitzuteilen.

Was die von uns angewandte Methodik anbetrifft, so haben wir uns, wie bereits oben erwähnt, ausschließlich der Fuldschen bedient. Dieselbe ist im Prinzip folgende: Eine Reihe von Reagensgläsern wird mit absteigenden Mengen Trypsin beschickt, zu jeder Portion 2 ccm einer $2^0/_{00}$igen Caseinlösung zugefügt und die ganze Reihe auf eine Stunde in ein konstantes Wasserbad von 37,5 bis 38° C gebracht. Nach Ablauf der Frist werden die Gläschen in ein kaltes Wasserbad übertragen, um

zunächst die Fermentwirkung zu kupieren, sodann werden zu jedem Gläschen je 3 Tropfen einer essigsauren alkoholischen Lösung (1 % Essigsäure + 50 % absol. Alkohol + 49 % Wasser) zugefügt und nun beobachtet, in welchem Gläschen die erste Trübung zu erkennen ist. Dieses Gläschen gilt als die untere Grenze der Verdauung und wird ebenso wie die nächstfolgenden mit —, die anderen dagegen, in welchen keine Trübung auftritt, in denen also das Casein vollkommen verdaut ist, mit + bezeichnet.

Die Trypsinlösung, welche wir zu unseren Versuchen verwandten, war stets die nämliche und in folgender Weise hergestellt. 1 g Pankreatin (Rhenania) wurde mit 50 ccm dest. Wasser 24 Stunden bei Eisschranktemperatur digeriert, danach die ungelöst gebliebenen Bestandteile abzentrifugiert und die auf diese Weise völlig geklärte Lösung mit dem gleichen Volumen (50 ccm Glycerinum purissimum) gemischt. Auf diese Weise erhielten wir eine Standardlösung, die sich während unserer ganzen Versuche bezüglich ihrer Trypsinwirkung ungeschwächt hielt und keine Fäulnis zeigte. Diese Ausgangslösung erwies sich indes als noch viel zu stark für die vorgeschriebene Caseinmenge und wurde deshalb vor dem Gebrauch mit destilliertem Wasser auf das Fünffache verdünnt.

Was die Fermentverteilung anbetrifft, so schien uns die von Fuld (7) in Vorschlag gebrachte sechsgliedrige geometrische Reihe am zweckmäßigsten. Dieselbe setzt sich zusammen aus den Zahlen 1,0, 0,64, 0,4, 0,25, 0,16, 0,1, bei denen jede nächstfolgende Zahl von der vorhergehenden um 1,6 differiert.

Dagegen sind wir bezüglich der Herstellung der 2‰igen Caseinlösung so verfahren, daß wir das abgewogene Kasein nicht, wie die Vorshrift lautet, in 20 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO lösen und mit 15 ccm $^{n}/_{10}$-HCl neutralisierten, sondern so, daß wir nur 5 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO verwandten und mit der entsprechenden Menge (2,9 bis 3 ccm) $^{n}/_{10}$-HCl neutralisierten. Maßgebend für diese Abweichung von der Vorschrift war die Überlegung, daß je mehr Alkali zur Auflösung des Caseins angewandt wird, auch eine um so größere Menge $^{n}/_{10}$-HCl zur Neutralisation notwendig ist. Das hat aber den großen Nachteil, daß auf diese Weise die Caseinlösung einen beträchtlichen Gehalt an Kochsalz bekommt, was speziell für unsere Versuchsanordnung

vermieden werden mußte, da wir gerade beabsichtigten, die Wirkung der neutralen Salze auf das Trypsin gesondert zu untersuchen. Bei der von uns gewählten Alkalimenge von 5 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO und der Neutralisation durch ca. 3 ccm $^{n}/_{10}$-HCl ergibt sich ein Gehalt an Kochsalz von ca. 0,017 $^{0}/_{0}$, d. h. in 1 ccm unserer Caseinlösung waren enthalten 0,00017 g NaCl, eine Menge, welche auf die Trypsinwirkung kaum von Einfluß sein dürfte. Überdies erfuhr durch den Zusatz der entsprechenden Fermentmenge diese an sich schon äußerst schwache Kochsalzkonzentration eine noch weitere Verdünnung.

Was endlich die Temperatur anbetrifft, so wählten wir überall, wie bereits auseinandergesetzt, eine der Körperwärme entsprechende, einmal um den natürlichen Verhältnissen im Magen möglichst nahe zu kommen, dann aber auch, weil bekanntlich um wenige Grade höhere Temperaturen bereits das Trypsin schädigen.

Es galt nun zunächst das Optimum der Wirkung unserer Standardlösung festzustellen. Da dieselbe schwach saure Reaktion zeigte, wurden folgende Versuche angestellt.

Die erste Reihe wurde ausgeführt mit einer nicht neutralisierten Trypsin- und einer nicht neutralisierten Caseinlösung, die zweite mit derselben Trypsinlösung nach vorheriger Neutralisation Caseinlösung und endlich die dritte nach Neutralisation beider Lösungen.

Der Versuch ergab folgendes:

Versuch 1.

Menge des Trypsins ccm	Saure Trypsin- und alkalische Caseinlösung	Saure Trypsin- und neutrale Caseinlösung	Neutrale Trypsin- u. neutrale Caseinlösung	Bemerkungen
0,002	+	+	+	
0,0013	+	+	+	1 Std.
0,0008	+	+	+	bei
0,0005	—	+	+	37,5 bis 38° C
0,0003	—	—	Spur	
0,0002	—	—	—	

Aus diesem Versuch geht hervor, daß 0,0005 g Trypsin in einer schwach alkalischen Lösung (1. Versuchsreihe) nicht mehr imstande sind, 2 ccm der Caseinlösung zu verdauen; bei über-

wiegend neutraler Reaktion (2. Versuchsreihe) ging der Verdauungsprozeß bereits besser vor sich, während endlich bei völlig neutraler Reaktion fast die ganze Menge Casein bis auf geringere Spuren verdaut wurde (3. Versuchsreihe). Aus diesem Grunde bin ich bei meinen weiteren Versuchen stets von einer genau neutralen Trypsin-, wie von einer genau neutralisierten Caseinlösung ausgegangen.

I. Wirkung der Säuren auf die Trypsinverdauung.

Der Einfluß der Säuren auf die Trypsinverdauung äußert sich in der doppelten Beziehung: einmal hat man daran zu denken, daß ihre Gegenwart die Trypsinwirkung als solche hemmt, andrerseits muß man auch in Rechnung ziehen, daß sie das Ferment direkt schädigen resp. zerstören können.

Wenn wir zunächst einmal den ersten Punkt ins Auge fassen wollen, so gehen die Angaben über die Wirkung der Salzsäure dahin, daß bei einem Gehalt von 0,05% das Ferment noch wirksam bleibt [Kühne (8), Langley (9)]. Ja nach der Angabe von Ewald (10) soll das Ferment sogar noch bei 0,3% Salzsäure wirksam sein. Chittenden und Cummins (11) fanden andrerseits, daß die tryptische Wirkung eine Förderung erfährt, wenn Säuren an Eiweißstoffe gebunden sind. In der gleichen Weise hat man sich wohl auch die fördernde Wirkung der Milchsäure, wie Lindberger (12) fand, bei Gegenwart von Galle zu erklären. Alle diese Untersuchungen geben aber keinen Aufschluß darüber, in welcher Weise die Anwesenheit freier Säuren auf das Trypsin wirkt, ob durch Hemmung des Verdauungsprozesses oder durch Vernichtung des Fermentes. Bei der von uns gewählten Versuchsanordnung war es möglich, diese Frage nach beiden Richtungen zu verfolgen, da die Menge des in jeder Portion enthaltenen Caseins so gering war (0,004 g), daß höchstens Spuren der Säure durch dasselbe gebunden werden konnten.

Zur Untersuchung kamen Schwefel-, Salz-, Butter-, Essig- und Milchsäure, und zwar verwandte ich stets die entsprechenden Normallösungen. Zur Ermittlung der untersten Grenze der Hemmung wurde in der Weise verfahren, daß mehrere Reihen mit Trypsin und Casein gleichmäßig angesetzt wurden,

und dann zur ersten Reihe beispielsweise 0,1 ccm der Normallösung, zur zweiten 0,2 ccm, zur dritten 0,3 ccm, zur vierten 0,4 ccm usw. zugesetzt und nun beobachtet wurde, bei welcher schwächsten Säurekonzentration noch eine deutliche Hemmung der Trypsinwirkung zu konstatieren war.

Die Versuche wurden mehrmals wiederholt und ergaben stets das Resultat, daß die stärkste Hemmung die Schwefelsäure bedingt, dann folgt Salzsäure, dann Essigsäure, dann Buttersäure, und am schwächsten war die Hemmung durch Milchsäure. Zur besseren Übersicht habe ich die Resultate in folgender Tabelle zusammengestellt.

Versuch 2 mit H_2SO_4.

Trypsin	0,9 ccm n/1000	0,1 ccm n/100	0,2 ccm n/100	0,3 ccm n/100	0,4 ccm n/100	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	Spur	+
0,0013	+	+	+	Spur	—	+
0,0008	+	+	+	—	—	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
H_2SO_4-Konzentration	0,0011 %	0,0016 %	0,0031 %	0,0045 %	0,0058 %	

Versuch 3 mit HCl.

Trypsin	0,1 ccm n/100	0,2 ccm n/100	0,3 ccm n/100	0,4 ccm n/100	0,5 ccm n/100	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	—	+
0,0008	+	+	Spur	—	—	+
0,0005	+	Spur	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
HCl-Konzentration	0,0012 %	0,0023 %	0,0033 %	0,0043 %	0,0052 %	

Versuch 4 mit Essigsäure.

Trypsin	0,2 ccm n/100	0,3 ccm n/100	0,4 ccm n/100	0,5 ccm n/100	0,6 ccm n/100	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	—	+
0,0013	+	+	+	Spur	—	+
0,0008	+	+	Spur	—	—	+
0,0005	+	—	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Essigsäure-Konzentrat.	0,0038 %	0,0054 %	0,007 %	0,0086 %	0,01 %	

Versuch 5 mit Buttersäure.

Trypsin	0,1 ccm n/100	0,2 ccm n/100	0,3 ccm n/100	0,4 ccm n/100	0,5 ccm n/100	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	—	+
0,0013	+	+	+	—	—	+
0,0008	+	+	Spur	—	—	+
0,0005	+	Spur	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Buttersäure-Konzentrat.	0,0028 %	0,0055 %	0,008 %	0,0104 %	0,013 %	

Versuch 6 mit Milchsäure.

Trypsin	0,1 ccm n/100	0,2 ccm n/100	0,3 ccm n/100	0,4 ccm n/100	0,5 ccm n/100	Kontrolle
0,002	+	+	+	Spur	—	+
0,0013	+	+	Spur	—	—	+
0,0008	+	+	—	—	—	+
0,0005	+	Spur	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Milchsäure-Konzentrat.	0,0029 %	0,0056 %	0,0082 %	0,011 %	0,013 %	

Aus diesen Versuchsreihen geht ferner hervor, daß das Trypsin außerordentlich empfindlich gegen freie Säure ist. So genügt von der Schwefelsäure schon ein Bruchteil eines Tausendstelprozentes, um eine Hemmung zu bewirken. Desgleichen von Salzsäure, während die organischen Säuren in ihrer hemmenden Wirkung etwa dreimal so schwach sind als die anorganischen.

Was nun die das Trypsin zerstörende Wirkung der Säuren anbetrifft, so wurde dieselbe in folgender Weise ermittelt.

Versuch 7 mit Schwefelsäure.

Anordnung: 4 ccm einer 1 %igen neutralen Trypsinstammlösung wurden mit der gleichen Menge Schwefelsäure von der Acidität 100 bzw. 50 bzw. 20 gemischt, so daß nach dieser Mischung noch der Säuregehalt von 0,25 bzw. 0,12 bzw. 0,05 % vorhanden war. Davon wurden je 2 ccm auf 4 Reagensgläser verteilt. Die erste Gruppe wurde sogleich mit Natronlauge von entsprechend starker Normallösung neutralisiert und durch Zugabe von destilliertem Wasser auf 5 ccm gebracht, um die für den Versuch erforderliche fünffache Verdünnung zu bekommen und mit dieser Lösung sodann der Verdauungsversuch in der üblichen Weise angesetzt.

Die anderen drei Reagensgläser wurden in den Brutofen gebracht; die zweite Portion nach einer Stunde, die dritte nach zwei Stunden und die vierte nach drei Stunden aus dem Brutschrank herausgenommen, abgekühlt, neutralisiert und dann die Trypsinstärke bestimmt. Das Resultat des Versuches war folgendes:

Schwefelsäure	Trypsin	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kontrolle
0,25 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	Spur	—	—	+
	0,0008	+	—	—	—	+
	0,0005	—	—	—	—	+
	0,0003	—	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,12 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	Spur	Spur	+
	0,0005	+	—	—	—	+
	0,0003	—	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,05 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	Spur	Spur	+
	0,0005	+	—	—	—	+
	0,0003	schwach	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß die Schwefelsäure in hohem Grade direkt zerstörend auf das Trypsin wirkt. Selbst bei einer Einwirkungszeit von wenigen Sekunden, als gerade zur Neutralisation notwendig waren, hat sie in einer 0,05 %igen Konzentration bereits die tryptische Kraft erheblich geschädigt, und in der 0,25 %igen Konzentration wurde das Ferment nach 2 bis 3 Stunden fast völlig zerstört.

Zu berücksichtigen wäre noch, daß bei der Neutralisation der Schwefelsäure mit Natronlauge Na_2SO_4 entsteht und daß dieses vielleicht durch seine Anwesenheit die Trypsinwirkung hemmen könnte. Die Menge dieses hierbei sich bildenden neutralen Salzes ist indes so gering (ca. 0,17 %), daß es, wie wir weiter unten sehen werden, vollkommen belanglos für den Ausfall des Versuches ist.

Versuch 8 mit Salzsäure.

Die Versuchsanordnung war hier die gleiche wie oben, und ebenso gestaltete sich die Ausführung der einzelnen Versuchsreihen in der nämlichen Weise:

Salzsäure	Trypsin	Sofort	Nach 1/2 Stunde	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kontrolle
0,18 %	0,002	+	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	Spur	+
	0,0008	+	+	Spur	schwach	—	+
	0,0005	Spur	schwach	—	—	—	+
	0,0003	—	—	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—	—
0,13 %	0,002	+	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	Spur	+
	0,0008	+	+	Spur	schwach	—	+
	0,0005	Spur	schwach	—	—	—	+
	0,0003	—	—	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—	—
0,037 %	0,002	+	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	Spur	Spur	+
	0,0005	+	Spur	schwach	schwach	schwach	+
	0,0003	—	—	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—	—

Aus diesen Versuchsreihen ergeben sich für die Salzsäure ganz ähnliche Verhältnisse wie für die Schwefelsäure, nur ist ihre zerstörende Wirkung eine schwächere. Es wirken somit die Mineralsäuren nicht nur hemmend auf die tryptische Verdauungskraft ein, sondern sie sind auch imstande, das Trypsin selbst zu zerstören, und zwar zerstören sie das Trypsin in dem gleichen Maße, wie sie seine Wirkung hemmen, d. h. je stärker eine Säure die tryptische Verdauung hemmt, um so größer ist ihre deletäre Wirkung auf das Ferment.

Dieser Satz trifft indes für die organischen Säuren nicht zu. Hier war das Ergebnis folgendes:

Versuch 9 mit Buttersäure.

Auch hier bedienten wir uns der nämlichen Versuchsanordnung wie oben.

Buttersäure	Trypsin	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kontrolle
0,44 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,22 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,09 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—

Versuch 10 mit Essigsäure.

Gleiche Versuchsanordnung wie oben.

Essig-säure	Trypsin	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kon-trolle
0,3%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,15%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,06%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—

Versuch 11 mit Milchsäure.

Gleiche Versuchsanordnung wie oben.

Milch-säure	Trypsin	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kon-trolle
0,45%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	Spur	Spur	Spur	+
	0,0003	Spur	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,23%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,09%	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	+	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—

Wie aus den letzten drei Tabellen hervorgeht, ist die zerstörende Kraft der organischen Säuren bezüglich des Trypsins im allgemeinen eine sehr geringe, während ihr Hemmungsvermögen, wie wir oben gesehen haben, stark ausgesprochen ist. Im Gegensatz zu den organischen Säuren geht also ihre zerstörende Wirkung keineswegs parallel mit der die Verdauung hemmenden, sondern wir sehen vielmehr, daß diejenige Säure, welche die Verdauung am schwächsten hindert, nämlich die Milchsäure, das Ferment am meisten schädigt, während bei den anderen beiden eine zerstörende Wirkung sich niemals nachweisen ließ, so oft auch der Versuch wiederholt wurde.

Auf den ersten Blick scheint das im Widerspruch mit unseren obigen Auseinandersetzungen zu stehen. Wenn wir aber in Betracht ziehen, daß die Hemmung der tryptischen Verdauung schon bei einer weit geringeren Säurekonzentration zutage tritt, als die Fermentzerstörung, so drängt sich uns der Schluß auf, daß eine direkte Beziehung zwischen Hemmung und Zerstörung nicht zu bestehen scheint.

II. Einfluß der Alkalien.

Die Alkalien spielen bei der Darmverdauung insofern eine äußerst wichtige Rolle, als sie die Aufgabe haben, für die Fermente des Pankreas die schädliche Wirkung der Magensalzsäure aufzuheben. Hinsichtlich der tryptischen Verdauung sind sie indes nicht indifferent, sondern von nachteiliger Wirkung, sobald sie in starker Konzentration vorhanden sind. Nach Heidenhain (12) jedoch sollen die Alkalien auch imstande sein, das Trypsinferment in geringerem Umfange zu unterstützen, und zwar am besten bei Anwesenheit von Natriumcarbonat in einer Konzentration von 0,1 bis 0,3°/₀. Dietze (1) fand, wie bereits oben erwähnt, bei seinen Untersuchungen über die Wirkung der Alkalien bei der Verdauung, daß die beschleunigende Wirkung der alkalischen Erden durch die Hydroxylgruppen bedingt werde. Dagegen konnte ich bei meinen Versuchen mit neutralen Lösungen von Alkalien eine derartige fördernde Wirkungsweise nicht beobachten, sondern kam zu dem Resultat, daß sie eher in geringerem Maße im hemmenden Sinne ihren Einfluß geltend machten. Ich führe zunächst die Versuche zwecks Bestimmung der Hemmungs- bzw. Zerstörungswirkung an.

Versuch 12 mit NaHO.

Trypsin	0,3 ccm $^{n}/_{40}$	0,4	0,5	0,6	0,7	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	—	—	+
0,0005	+	+	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Alkalikonzentr. nach der Mischung	0,0091 %	0,0118 %	0,0143 %	0,0167 %	0,0189 %	

Versuch 13 mit Na_2CO_3.

Trypsin	0,1 ccm $^{n}/_{20}$	0,2 ccm $^{n}/_{20}$	0,3 ccm $^{n}/_{20}$	0,4 ccm $^{n}/_{20}$	0,5 ccm $^{n}/_{20}$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	—	+
0,0008	+	+	+	—	—	+
0,0005	+	+	—	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Alkalikonzentr.	0,046 %	0,09 %	0,13 %	0,168 %	0,204 %	

Versuch 14 mit MgO.

Trypsin	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	0,6 ccm	0,7 ccm	0,8 ccm	0,9 ccm	1,0 ccm	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Alkalikonzentration	0,00003 %	0,00006 %	0,00009 %	0,00012 %	0,00014 %	0,00016 %	0,00019 %	0,0002 %	0,00023 %	0,00025 %	

Aus diesen drei Versuchen ergibt sich, daß MgO keine Hemmung der Trypsinverdauung statthat, daß Na_2CO_3 bei einer Konzentration von 0,09 % und NaHO bei einer Konzentration von 0,0118 % das Trypsin ungünstig beeinflußt. Ver-

gleichen wir diese Konzentrationsverhältnisse mit den Säuren, so ergibt sich, daß die hemmende Wirkung der Alkalien weit schwächer ist als die hemmende Wirkung der Säuren. — Eine fördernde Wirkung der Alkalien habe ich bei meiner Versuchsanordnung niemals konstatieren können.

Was nun die zerstörende Wirkung der Alkalien anbetrifft, so ergaben meine Versuche folgendes:

Versuch 15 mit Na_2CO_3.

Die Versuchsanordnung war hier die gleiche wie bei den Zerstörungsversuchen mit Säuren.

Alkalescenz	Trypsin	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Kontrolle
0,71 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	Spur	Spur	+
	0,0003	Spur	—	—	—	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,36 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	Spur	Spur	+
	0,0003	Spur	schwach	schwach	schwach	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—
0,14 %	0,002	+	+	+	+	+
	0,0013	+	+	+	+	+
	0,0008	+	+	+	+	+
	0,0005	+	+	+	Spur	+
	0,0003	Spur	Spur	Spur	schwach	Spur
	0,0002	—	—	—	—	—

Hieraus ergibt sich, daß das Trypsin durch die Einwirkung von Na_2CO_3 während nur kurzer Zeit (1 Stunde) bei beliebiger Konzentration nicht geschädigt wird, dagegen bei längerer Einwirkungsdauer durch eine 0,14% Lösung von Na_2CO_3 deutlich in seiner verdauenden Kraft herabgesetzt wird. Weitere Untersuchung mit den Alkalien schienen uns überflüssig, da die Versuche mit Na_2CO_3 ein durchaus eindeutiges Resultat ergab.

Wie wir oben gesehen haben, wirken Alkalien und Säuren bei der von uns gewählten Versuchsanordnung bereits sehr

stark hemmend auf das tryptische Enzym. Mit dieser Beobachtung ist indes die Erfahrungstatsache schwer zu vereinbaren, daß im frischen Darmsaft trotz seiner starken Alkalescenz die tryptische Verdauung ungehindert vonstatten geht, während beim Versuch im Reagensglase nur bei neutraler Reaktion die besten Bedingungen gegeben zu sein scheinen und schon geringere Mengen von Alkalien bereits hemmend auf den tryptischen Verdauungsprozeß, wenn nicht gar zerstörend auf das Trypsin einwirken. Nach den Angaben von Nagano (13), Hamburger und Hekma (14) beträgt die Alkalescenz des Darmsaftes, auf Na_2CO_3 berechnet, 0,22 % im Durchschnitt, so daß 1 ccm Darmsaft hinsichtlich seiner Alkalescenz etwa 0,45 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 entspricht. Nun kann aber auf Grund unserer Versuche das Trypsin eine so hohe Konzentration von Na_2CO_3 nicht vertragen, ohne Schaden an seiner Funktion zu erleiden. Dieser Widerspruch zwischen den von uns gewonnenen Resultaten und den durch die Erfahrung an Tieren und Menschen festgestellten Tatsachen dürfte wohl darin seine Erklärung finden, daß, während wir in unseren Versuchen ausschließlich den Einfluß der freien Alkalien untersuchten, unter physiologischen Bedingungen dagegen das Alkali in vorwiegend oder gar ausschließlich gebundener Form, sei es als Alkalialbuminat oder sonst irgendwie, vor uns haben.

III. Einfluß verschiedener Salze.

Das Verhalten von Salzen gegen das tryptische Ferment ist schon vielfach geprüft worden, mit dem Resultat, daß es nur wenige gegen Trypsin indifferente Salze gibt, während die meisten einen die tryptische Verdauung hemmenden Einfluß besitzen. Unter den Salzen wählte ich zunächst bei meinen Versuchen diejenigen, welche den oben genannten Säuren entsprechen und im Darme vorzugsweise angetroffen werden.

Vorausgeschickt sei, daß die Zubereitung der Caseinlösung in den einzelnen Fällen so geschah, daß die Neutralisation nicht mit Salzsäure, sondern jedesmal mit der dem neutralen Salz entsprechenden $^n/_{10}$-Säure vorgenommen wurde. Es wurde deshalb von der früheren Versuchsanordnung abgewichen, um das durch Neutralisation mit HCl entsprechende NaCl auszuschalten. Sonst war die Versuchsanordnung die gleiche wie

früher. Das milchsaure bzw. buttersaure Natrium gewann ich aus den Lösungen, welche durch die Neutralisation der entsprechenden Normalsäure mit der Normalnatronlauge erhalten worden waren. Die in der Tabelle angegebene Prozentzahl (ohne Krystallwasser gerechnet) stellt also dar die Summe der zugesetzten und der in der Caseinlösung gebildeten Menge des Salzes.

Versuch 16 mit Na_2SO_4.

Trypsin	0,9 ccm $^n/_{10}$	0,1 ccm $^n/_n$	0,2 ccm $^n/_n$	0,3 ccm $^n/_n$	0,4 ccm $^n/_n$	0,5 ccm $^n/_n$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0005	+	+	Spur	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—	—
Na_2SO_4-Konzentr.	0,44 %	0,47 %	0,9 %	1,3 %	1,68 %	2,04 %	

Versuch 17 mit NaCl.

Trypsin	0,2 ccm $^n/_n$	0,3 ccm $^n/_n$	0,4 ccm $^n/_n$	0,5 ccm $^n/_n$	0,6 ccm $^n/_n$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
NaCl-Konzentr.	0,37 %	0,54 %	0,69 %	0,84 %	0,98 %	

Versuch 18 mit phosphorsaurem Natrium.

Trypsin	0,1 ccm $^n/_2$	0,2 ccm $^n/_2$	0,3 ccm $^n/_2$	0,4 ccm $^n/_2$	0,5 ccm $^n/_2$	0,6 ccm $^n/_2$	0,7 ccm $^n/_2$	0,8 ccm $^n/_2$	0,9 ccm $^n/_2$	1,0 ccm $^n/_2$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0003	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Phosp. Natr.-Konzentr.	0,24 %	0,43 %	0,66 %	0,85 %	1,03 %	1,2 %	1,35 %	1,51 %	1,65 %	1,79 %	

Versuch 19 mit buttersaurem Natrium.

Trypsin	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	Spur	+
0,0005	+	+	schwach	schwach	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Butters. N.-Konzentr.	0,198 %	0,36 %	0,52 %	0,67 %	0,81 %	

Versuch 20 mit milchsaurem Natrium.

Trypsin	0,4 ccm	0,5 ccm	0,6 ccm	0,7 ccm	0,8 ccm	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	Spur	+
0,0008	+	+	+	Spur	—	+
0,0005	+	+	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Milchs. N.-Konzentr.	0,68 %	0,82 %	0,95 %	1,08 %	1,2 %	

Versuch 21 mit essigsaurem Natrium.

Trypsin	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	0,6 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	Spur	+
0,0005	+	+	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Essigs. N.-Konzentr.	0,53 %	0,76 %	0,98 %	1,19 %	1,38 %	

Versuch 22 mit oleinsaurem Natrium.

Trypsin	0,9 ccm $^{n}/_{1000}$	0,1 ccm $^{n}/_{100}$	0,2 ccm $^{n}/_{100}$	0,3 ccm $^{n}/_{100}$	0,4 ccm $^{n}/_{100}$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	—	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Oleins. N.-Konzentrat	0,0069 %	0,0097 %	0,0187 %	0,0272 %	0,035 %	

Wenn wir zunächst die Wirkung der anorganischen Natriumsalze betrachten, so hat sich ergeben, daß am wenigsten die tryptische Wirkung beeinflußt hat das Natriumphosphat, stärker das Kochsalz und am stärksten das Natriumsulfat. Eine fördernde Wirkung des Kochsalzes, wie Heidenhain (12), Dietze (15), Chittenden (11) und Weiss (16) beobachtet haben, habe ich bei der von mir gewählten Versuchsanordnung niemals feststellen können. Auch Pfeiffer (17) bestreitet eine Begünstigung der Trypsinwirkung durch das Kochsalz. — Schwächer als die anorganischen hemmten die organischen Salze, und zwar am schwächsten das essigsaure Natron, etwas stärker das milchsaure und am stärksten das buttersaure Natrium.

Was endlich die Wirkung des oleinsauren Natriums anbetrifft, so erfuhr ich hierbei in der gleichen Weise, wie neuerdings Neumann (18) den Einfluß des oleinsauren Natriums und Lecithins auf das Trypsin untersuchte. Auch er hat feststellen können, daß das oleinsaure Natrium die tryptische Wirkung hemmt, gibt aber eine untere Grenze der Hemmungswirkung nicht weiter an. Ich stellte fest, daß die unterste Hemmungsgrenze des oleinsauren Natriums etwa bei 0 0097 % liegt.

Von anderen neutralen Salzen habe ich noch mit Natriumnitrat und -nitrit untersucht. Sie hemmen erst bei weit stärkerer Konzentration die tryptische Verdauung als das Kochsalz. Einige Versuche mit diesen Salzen mögen ihre Wirkung illustrieren.

Versuch 23 mit $NaNO_3$.

Trypsin	0,2 ccm $^n/_n$	0,3 ccm $^n/_n$	0,4 ccm $^n/_n$	0,5 ccm $^n/_n$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
$NaNO_3$-Konzentration	0,53 %	0,77 %	1 %	1,21 %	

Versuch 24 mit $NaNO_2$.

Trypsin	0,3 ccm $^n/_n$	0,4 ccm $^n/_n$	0,5 ccm $^n/_n$	0,6 ccm $^n/_n$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
$NaNO_2$-Konzentration	0,63 %	0,81 %	0,99 %	1,15 %	

Weiter untersuchte ich die Wirkung der Chloride auf die tryptische Verdauung. Zur Untersuchung kam $CaCl_2$, $MgCl_2$, $BaCl_2$, $(NH_4)Cl$ und KCl. Die Versuchsanordnungen waren die gleichen wie früher.

Versuch 25 mit $CaCl_2$.

Trypsin	0,1 ccm $^n/_{100}$	0,2 ccm $^n/_{100}$	0,3 ccm $^n/_{100}$	0,4 ccm $^n/_{100}$	0,5 ccm $^n/_{100}$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0005	+	+	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	+
$CaCl_2$-Konzentrat.	0,0071 %	0,014 %	0,02 %	0,026 %	0,032 %	

Versuch 26 mit $MgCl_2$.

Trypsin	0,1 ccm $^n/_{50}$	0,2 ccm $^n/_{50}$	0,3 ccm $^n/_{50}$	0,4 ccm $^n/_{50}$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
$MgCl_2$-Konzentrat.	0,013%	0,025%	0,037%	0,048%	

Versuch 27 mit $BaCl_2$.

Trypsin	0,1 ccm $^n/_{50}$	0,2 ccm $^n/_{50}$	0,3 ccm $^n/_{50}$	0,4 ccm $^n/_{50}$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
$BaCl_2$-Konzentrat.	0,016%	0,03%	0,044%	0,057%	

Versuch 28 mit $(NH_4)Cl$.

Trypsin	0,1 ccm $^n/_n$	0,2 ccm $^n/_n$	0,3 ccm $^n/_n$	0,4 ccm $^n/_n$	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
$(NH_4)Cl$-Konzentrat.	0,17%	0,33%	0,5%	0,63%	

Versuch 29 mit KCl.

Trypsin	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	0,6 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
KCl-Konzentrat.	0,68%	0,88%	1,07%	1,24%	

Die Chloride besitzen also im ganzen eine ziemlich stark hemmende Wirkung. Unter ihnen steht an erster Stelle $CaCl_2$; darauf folgen der Reihe nach an Wirkung schwächer werdend, $MgCl_2$, $BaCl_2$, NH_4Cl, NaCl und KCl. Danach hat es den Anschein, daß die Anzahl der Cl-Moleküle in direktem Verhältnis zur hemmenden Kraft steht. Wenn man die Wirkungsverhältnisse der Chloride mit denen der Sulfate vergleicht (s. unten), so ergibt sich, daß z. B. $MgCl_2$ stärker hemmend wirkt als $MgSO_4$, während die sonstigen einwertigen Chloride schwächer wirken als die einwertigen Sulfate.

Untersucht wurden $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$ und K_2SO_4.

Versuch 30 mit $MgSO_4$.

Trypsin	0,8 ccm n/100	0,9 ccm n/100	0,1 ccm n/10	0,2 ccm n/10	0,3 ccm n/10	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	Spur	Spur	—	+
0,0003	. Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
$MgSO_4$-Konzentrat.	0,052%	0,057%	0,079%	0,15%	0,22%	

Versuch 31 mit $(NH_4)_2SO_4$.

Trypsin	0,6 ccm n/10	0,7 ccm n/10	0,8 ccm n/10	0,9 ccm n/10	1 ccm n/10	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
$(NH_4)_2SO_4$-Konzentrat	0,22 %	0,25 %	0,28 %	0,31 %	0,44 %	

Versuch 32 mit K_2SO_4.

Trypsin	0,1 ccm n/2	0,2 ccm n/2	0,3 ccm n/2	0,4 ccm n/2	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
K_2SO_4-Konzentrat.	0,28 %	0,55 %	0,79 %	1,02 %	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Sulfate im allgemeinen stärker hemmen als die Chloride, wenn man das Krystallwasser nicht in Rechnung zieht. Die Reihenfolge ist dieselbe wie bei den Chloriden; auch hier zeigt das Kaliumsalz den schwächeren Einfluß als das Natriumsalz.

Prüfung der übrigen Halogensalze.

BrNa, JNa, JK.

Versuch 33 mit BrNa.

Trypsin	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	Spur	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
BrNa-Konzentrat.	0,64 %	0,93 %	1,21 %	1,47 %	

Versuch 34 mit JNa.

Trypsin	0,1 ccm n/n	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0005	+	Spur	Spur	—	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
JNa-Konzentrat.	0,6%	1,16%	1,69%	2,18%	2,66%	

Versuch 35 mit JK.

Trypsin	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—
JK-Konzentrat.	1,04%	1,5%	1,95%	2,37%	

Vergleichen wir die gewonnenen Resultate mit denen von dem Chlornatrium, so ergibt sich, daß den geringsten hemmenden Einfluß die Jodide haben, etwas stärker die Bromide und am intensivsten die Wirkung der Chloride ist. Aus dieser Versuchsreihe geht wiederum hervor, daß die Kaliumsalze schwächer hemmen als die Natriumsalze.

IV. Einfluß der Kohlenhydrate.

Hinsichtlich des Einflusses des Traubenzuckers auf den Verlauf des tryptischen Verdauungsprozesses hat zuerst Weiss (16) genauere Studien veröffentlicht und dabei mitgeteilt, daß der Traubenzucker keine wesentliche Schädigung auf das Trypsin auszuüben vermag. Zu dem gleichen Resultat kamen wir auch bei Zusatz von Rohrzucker und Milchzucker neben Traubenzucker.

Versuch 36 mit Rohrzucker.

Trypsin	0,1 ccm n/n	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Rohrzucker-Konzentrat.	1,06%	2,06%	3%	3,88%	4,71%	

Versuch 37 mit Milchzucker.

Trypsin	0,1 ccm n/n	0,2 ccm n/n	0,3 ccm n/n	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	+	Spur	Spur	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Milchzucker-Konzentrat.	1,16%	2,25%	3,27%	4,24%	5,14%	

Versuch 38 mit Traubenzucker.

Trypsin	0,4 ccm n/n	0,5 ccm n/n	0,6 ccm n/n	0,7 ccm n/n	0,8 ccm n/n	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Traubenzucker-Konzentrat.	2,32%	2,83%	3,3%	3,75%	4,17%	

Versuch 39 mit Stärke (1%).

Trypsin	0,4 ccm	0,5 ccm	0,6 ccm	0,7 ccm	0,8 ccm	Kontrolle
0,002	+	+	+	+	+	+
0,0013	+	+	+	+	+	+
0,0008	+	+	+	+	+	+
0,0005	+	Spur	Spur	Spur	—	+
0,0003	Spur	—	—	—	—	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—
Stärke-Konzentrat.	0,12%	0,14%	0,17%	0,19%	0,21%	

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß Rohr- und Milchzucker ebensowenig wie Traubenzucker das tryptische Ferment ungünstig beeinflussen. Die Stärke dagegen besitzt einen beträchtlichen Grad von hemmender Kraft. Ob dieselbe auf einer direkten Beeinflussung des Trypsins beruht oder eine einfache Absorptionserscheinung ist, mag dahingestellt bleiben.

Zum Schlusse haben wir noch die Wirkung von Pepsin auf das tryptische Ferment untersucht, indem wir einerseits sauren Magensaft auf das Ferment wirken ließen, andrerseits mit vorher neutralisiertem Magensaft einen Versuch angestellt haben.

Versuch 40 mit Magensaft des Hundes.

Trypsin	Nicht neutralisiert	Neutralisiert						Kontrolle
	0,1 ccm	0,1ccm	0,3ccm	0,5ccm	0,7ccm	0,9ccm	1 ccm	
0,002	—	+	+	+	+	+	+	+
0,0013	—	+	+	+	+	+	+	+
0,0008	—	+	+	+	+	+	+	+
0,0005	—	+	+	+	+	+	+	+
0,0003	—	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur
0,0002	—	—	—	—	—	—	—	—

Wie zu erwarten war, bewirkte der saure Magensaft eine vollkommene Hemmung der tryptischen Verdauung; mit neutralem Magensaft wurde dagegen eine nachteilige Wirkung nicht beobachtet. Um nun zu entscheiden, ob das Tepsin hierbei eine Rolle gespielt hat, oder die Hemmung ausschließlich auf

die Salzsäure zurückzuführen ist, wurde ein Versuch mit normalen und ein Versuch mit erhitzten (30 Minuten bei 100°) Magensaft angestellt. Das Resultat war folgendes:

Versuch 41.

Trypsin	0,1 ccm Magensaft		Kontrolle
	normal	erhitzt	
0,002	—	—	+
0,0013	—	—	+
0,0008	—	—	+
0,0005	—	—	+
0,0003	—	—	Spur
0,0003	—	—	—

Aus diesem Versuch geht hervor, daß das Tepsin bei der Hemmung des Trypsins durch Magensaft keine wesentliche Rolle spielt.

Zusammenfassung.

1. Bei Versuchen mit Pankreatinlösungen (Pankreatin „Rhenania") geht die tryptische Verdauung am besten in neutraler Reaktion vonstatten.

2. Die Säuren und Alkalien hemmen bereits in sehr geringen Mengen die tryptische Verdauung; dabei wirken die organischen Säuren intensiver als die anorganischen.

3. Neben dieser hemmenden Kraft besitzen die Säuren und Alkalien einen zerstörenden Einfluß auf das Trypsin selbst. Den stärksten zeigen die anorganischen Säuren, während die organischen Säuren in dieser Hinsicht nur sehr wenig intensiv wirken; die Essigsäure ist völlig indifferent. Die zerstörende Kraft der anorganischen Säuren geht nicht parallel mit der sonstigen Wertigkeit oder Stärke der Säuren. Na_2CO_3 besitzt sehr geringe schädigende Wirkung.

4. Die den Säuren entsprechenden Salze vermögen die tryptische Verdauung nur sehr schwach zu hemmen. Das phosphorsaure Natrium ist gänzlich indifferent.

5. Nitrate und Nitrite besitzen geringere Hemmungskraft als Kochsalz.

6. Die Chloride hemmen z. T. sehr stark, z. T. sehr schwach; dabei ist die Anzahl der Cl-Moleküle von maßgebender Bedeutung.

7. Sulfate hemmen stärker als Kochsalz.

8. Die Alkalisalze der Halogenkörper besitzen nur sehr geringe Hemmungsintensität.

9. Die Kalisalze besitzen immer schwächere Wirkungskraft als die Natriumsalze.

10. Rohr-, Milch- und Traubenzucker hemmen die Trypsinverdauung nur sehr wenig oder fast gar nicht, die Stärke dagegen in ziemlich erheblichem Maße.

Zum Schluß sei noch besonders hingewiesen auf ein praktisches Ergebnis, welches diese Untersuchungen gezeitigt haben. Bei der Erlangung von Darm-Pankreassaft unter Verwendung der Boldyreffschen Öl-Methode bekommt man häufig eine sauer reagierende Flüssigkeit, deren Acidität mitunter trotz des an sich alkalischen Darminhaltes recht beträchtlich sein kann. In einem solchen Inhalt ist natürlich der Nachweis von Pankreasfermenten außerordentlich erschwert. Gelingt der Nachweis trotzdem, so können die festgestellten Mengenverhältnisse beispielsweise des Trypsins ein vollkommen falsches Bild von den tatsächlich im Pankreassaft enthaltenen Fermentquantitäten geben. Denn wir haben gezeigt, daß selbst bei geringer Salzsäurekonzentration das Trypsin schon beträchtlichen Schaden nimmt. Es würde also bei sauer reagierendem Mageninhalt weniger Trypsin sich nachweisen lassen, als ursprünglich in dem Darm-Pankreassaft-Gemisch enthalten waren, und man würde auf diese Weise zu ganz falschen Schlüssen kommen. Von diesen Überlegungen ausgehend, haben bereits Abderhalden und Medrigreceanu (19) bei Hunden, die gewöhnlich in ihrem Mageninhalt besonders hohe Salzsäurewerte aufweisen, zur Abstumpfung der Säure Natriumcarbonat gleichzeitig mit dem Öl verabfolgt.

Indem wir nun darauf hinweisen, daß auch ein verhältnismäßig geringer Überschuß von Soda schon imstande ist, die tryptische Verdauung zu beeinträchtigen, schlagen wir vor, statt des leicht löslichen Natriumcarbonats das schwer resp. fast unlösliche Magnesiumoxyd gleichzeitig mit dem Öl in den Magen einzuführen. Soweit Cl-Ionen im Mageninneren vor-

handen sind, werden dieselben sofort von den Mg-Ionen mit Beschlag belegt unter Bildung von $MgCl_2$, während das überschüssige MgO vollkommen ungelöst bleibt und abfiltriert werden kann. Das bei dieser Umsetzung entstehende $MgCl_2$ ist, wie Versuch 16 beweist, für die Trypsinwirkung zwar nicht ganz gleichgültig, aber es würde sich in dem Mageninhalt in einer so schwachen Konzentration finden, daß seine Anwesenheit die tryptische Verdauung nicht beeinträchtigen würde.

Literatur.

1. Dietze und Kanitz. Zeitschr. f. physiol. Chem. 37.
2. Lindberger. Malys Jahresbericht **13**, 1883.
3. Podolinsky. Diss., Breslau 1876.
4. Fuld. Verhdl. d. Ver. f. inn. Med. 1907.
5. Boldyreff. Pflügers Archiv **121**, 1907.
6. Volhard und Mohr. Sitzungsber. d. inn. Med. 1908.
7. Fuld. Malys Jahresbericht 1907.
8. Kühne. Verh. Nat. Med. V. Heidelb. N. F. 1.
9. Langley. Journ. of Physiol. **3**, 263.
10. Ewald. Zeitschr. f. klin. Med. **1**, 615.
11. Chittenden und Cummins. Malys Jahresbericht 1885.
12. Heidenhain. Pflügers Archiv **10**.
13. Nagano. Mitteil. aus d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **9**, 393.
14. Hamburger und Hekma. Zentralbl. d. med. Wiss. 1892, 945.
15. Dietze. Malys Jahresbericht 1902, 483.
16. Weiß. Zeitschr. f. physiol. Chem. 40.
17. Pfeiffer s. Hammarstens. Lehrb. d. physiol. Chem.
18. Neumann. Berliner klin. Wochenschr. 1908, 46.
19. Abderhalden und Medrigreceanu. Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 1908.

Berichtigung zu der Arbeit „Über den Energieverbrauch bei verschiedenen Arten menschlicher Arbeit usw.“

(Diese Zeitschr. 14, 430—457, 1908.)

Von

Felix Reach.

In den Tabellen III und IV handelt es sich um kleine Calorien, und es soll daher in den Stab-Überschriften cal. statt Cal. heißen. Außerdem sind im vorletzten Stabe der Tabelle III alle Zahlen mit 10 zu multiplizieren. Es soll also richtig heißen: 95; 265; 100 usw. und nicht: 9,5; 26,5; 10,0.

Autorenverzeichnis.

